

Aus der
Klinik für Pferde
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Vergleichende Analyse verschiedener quantitativer Auswertungsverfahren
zur Beurteilung der Sehnenheilung des Pferdes in
Magnetresonanztomographie und Ultraschall**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Melanie Bohner
aus Leipzig

Leipzig, 2019

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. vet. med. habil. Walter Brehm

Betreuer: Prof. Dr. vet. med. habil. Walter Brehm

Gutachter: Prof. Dr. vet. med. habil. Walter Brehm, Klinik für Pferde,
Universität Leipzig

Dr. med. vet. habil. Uta Delling, Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche
Hochschule Hannover

Tag der Verteidigung: 02.04.2019

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	VII
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 Anatomie der Beugesehnen der Vordergliedmaße des Pferdes	3
2.2 Erkrankungen der OBS des Pferdes	3
2.3 Bildgebende Verfahren bei Sehnenenerkrankungen	4
2.3.1 Magnetresonanztomographie.....	4
2.3.1.1 Einleitung.....	4
2.3.1.2 Physikalische Grundlagen	5
2.3.1.3 Der Resonanzeffekt	5
2.3.1.4 Die Relaxation	6
2.3.1.5 Bildkontrastdarstellung.....	6
2.3.1.5.1 T ₁ -gewichtete Bilder	7
2.3.1.5.2 T ₂ -gewichtete Bilder	7
2.3.1.5.3 Protonendichte-gewichtete Bilder	7
2.3.1.6 Sequenzen.....	8
2.3.1.6.1 Saturation-Recovery- und Partial-Saturation- Sequenzen.....	8
2.3.1.6.2 Spin-Echo-Sequenzen.....	8
2.3.1.6.3 Gradienten-Echo-Sequenzen	8
2.3.1.6.4 Inversions-Recovery-Sequenzen	8
2.3.1.6.5 Schnelle Sequenzen.....	9
2.3.1.7 Sehngewebe im MRT-Bild und Bildauswertung	9
2.3.2 Ultraschall.....	11
2.3.2.1 Einleitung.....	11
2.3.2.2 Physikalische Grundlagen	11
2.3.2.3 Technische Grundlagen	12
2.3.2.4 Bildarten.....	12
2.3.2.5 Doppler-Sonographie.....	12
2.3.2.6 Bildartefakte	13
2.3.2.7 Sehngewebe im Ultraschallbild und Bildauswertung.....	14
2.3.2.8 Einteilung der Metacarpalregion für die Sonographie	15
2.4 Histologie von Sehngewebe.....	16
2.4.1 Histologischer Aufbau von Sehngewebe	16
2.4.2 Histologische Färbemethoden für Sehngewebe.....	17
2.4.2.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)	17
2.4.2.2 Masson-Trichom-Färbung (TM).....	17
2.5 Sehnenheilung.....	17
2.5.1 Entzündliche Phase	18
2.5.2 Proliferationsphase	18

2.5.3	Remodellingphase	18
2.6	Experimentelle Sehnenläsionen an Tiermodellen.....	19
2.6.1	Chirurgisch induzierte Sehnenläsionen	19
2.6.2	Sehnenläsionen mittels Kollagenase-Applikation.....	19
2.6.3	Kombination aus chirurgischem Verfahren und Kollagenase-Applikation.....	20
3	TIERE, METARIAL UND METHODEN.....	21
3.1	Untersuchte Tiere.....	21
3.2	Induzierte Sehnenläsionen und Weiterbehandlung	21
3.2.1	Chirurgischer Eingriff.....	21
3.2.2	Versorgung prä und post operationem	22
3.2.3	Applikation von Serum und mesenchymalen Stromazellen	22
3.2.4	Behandlungsprogramm nach Serum- und MSC-Injektion	22
3.3	Magnetresonanztomographie.....	23
3.3.1	Kernspintomograph	23
3.3.2	Durchführung.....	23
3.3.2.1	Sedation.....	23
3.3.2.2	Untersuchungszeitpunkte.....	23
3.3.2.3	Sequenzen.....	24
3.3.3	MRT-Bildmaterial	24
3.4	Ultraschall.....	24
3.4.1	Ultraschallgerät	24
3.4.2	Durchführung.....	24
3.4.2.1	Untersuchungszeitpunkte.....	24
3.4.2.2	Untersuchungstechnik.....	25
3.4.3	Ultraschall-Bildmaterial.....	25
3.5	Histologie.....	25
3.5.1	Entnahme der Gewebeproben.....	25
3.5.2	Histologische Einbettung	25
3.5.3	HE-Färbung.....	25
3.5.3.1	Färbemethode.....	25
3.5.3.2	Auswertung der HE-Schnitte	26
3.5.4	Masson-Trichrom-Färbung	26
3.5.4.1	Färbemethode.....	26
3.5.4.2	Auswertung der Masson-Trichrom-Schnitte	26
3.6	Auswertung des Bildmaterials.....	27
3.6.1	Auswertung der MRT- und Ultraschallbilder	27
3.6.1.1	Messung der CSA.....	27
3.6.1.1.1	Synedra-Messung.....	27
3.6.1.1.2	Mathematica-Messung.....	28
3.6.1.1.3	Verwendung der ermittelten CSA-Werte	28

3.6.1.2	Volumenberechnung	29
3.6.1.3	Messung der SI.....	29
3.6.1.3.1	Synedra-Messung.....	29
3.6.1.3.2	Mathematica-Messung.....	31
3.6.1.3.3	Standardisierung der Signalintensitäten.....	32
3.7	Statistische Auswertung.....	32
4	ERGEBNISSE	35
4.1	Standardisierung der SI der Sehnenläsion	35
4.2	Definition der ROI für die Messung der SI der Sehnenläsion.....	37
4.3	CSA-Messungen der Maximalbereiche im Vergleich zur gesamten Läsion.....	40
4.4	Gegenüberstellung der manuellen und automatisierten Messungen.....	43
4.4.1	Vergleich der SI-Bestimmung.....	43
4.4.2	Vergleich der CSA-Bestimmung	45
4.4.3	Vergleich der Volumenberechnung.....	47
4.5	Eignung von Ultraschall und verschiedenen MRT-Sequenzen für Diagnose und Verlaufskontrollen von Sehnenläsionen.....	49
4.5.1	Gegenüberstellung von MRT und Ultraschall.....	49
4.5.1.1	Ultraschall und T ₁ -Sequenz.....	49
4.5.1.2	Ultraschall und T ₂ -Sequenz.....	50
4.5.1.3	Ultraschall und T ₂ *-Sequenz	50
4.5.1.4	Ultraschall und STIR-Sequenz	51
4.5.1.5	Darstellung des Heilungsverlaufs in Ultraschall und MRT	52
4.6	Darstellung des Heilungsverlaufs in verschiedenen MRT-Sequenzen	53
4.6.1	SI der Läsion	53
4.6.2	CSA der Läsion.....	54
4.6.3	Volumen der Läsion	55
5	DISKUSSION.....	57
5.1	Diskussion der Standardisierung der SI der Sehnenläsion.....	57
5.2	Diskussion der unterschiedlich großen ROI für die SI-Messung in der Sehnenläsion.....	58
5.3	Diskussion der unterschiedlichen CSA-Messungen zur Beurteilung des Heilungsverlaufes	59
5.4	Diskussion der Gegenüberstellung der manuellen und automatisierten Messungen.....	60
5.4.1	Automatisierte SI-Bestimmung.....	61

5.4.2	Automatisierte CSA-Bestimmung	62
5.4.3	Automatisierte Bestimmung des Läsionsvolumens	63
5.5	Diskussion der Eignung von Ultraschall und verschiedener MRT-Sequenzen für Diagnose und Verlaufskontrollen von Sehnenläsionen	64
5.6	Diskussion der Gegenüberstellung der MRT-Sequenzen	66
5.6.1	Diskussion der SI der Läsion	67
5.6.2	CSA der Läsion im Heilungsverlauf	68
5.6.3	Läsionsvolumen im Heilungsverlauf	69
5.7	Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse	70
6	ZUSAMMENFASSUNG	72
7	SUMMARY	74
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	76
9	ANHANG.....	80
9.1	Statistische Tabellen und Graphiken	80
9.1.1	Ergänzende Daten Kapitel 4.1.....	80
9.1.2	Ergänzende Daten Kapitel 4.2.....	86
9.1.3	Ergänzende Daten Kapitel 4.3.....	91
9.1.4	Ergänzende Daten Kapitel 4.4.1	96
9.1.5	Ergänzende Daten Kapitel 4.4.2.....	99
9.1.6	Ergänzende Daten Kapitel 4.4.3.....	102
9.1.7	Ergänzende Daten Kapitel 4.6.....	105
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	107
	TABELLENVERZEICHNIS	112
	DANKSAGUNG.....	113

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A-Mode-Verfahren	Amplitudenmoduliertes Verfahren
angep. CSA	angepasste Cross-Section-Area
AVG-Wert	Durchschnittswert (average), (automatisch ermittelt)
B-Mode-Verfahren	Brightness-Mode-Verfahren
bzw.	beziehungsweise
cmm	Kubikmillimeter
CSA	Cross-Section-Area
FLAIR	fluid attenuated inversion recovery
FLASH	fast low angle shot
FSE	fast spin echo (Fast-Spin-Echo-Sequenz)
GRE	gradient echo (Gradienten-Echo-Sequenz)
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
MAX	Maximal
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mm ³	Kubikmillimeter
M-Mode-Verfahren	Motion-Mode-Verfahren
MRI	magnetic resonance imaging
MRT	Magnetresonanztomographie
m/s	Meter pro Sekunde
MSC	mesenchymal stromal cells (mesenchymale Stromazellen)
ms	Millisekunden

MW	Mittelwert (manuell errechnet)
μm	Mikrometer
nm	Nanometer
OBS	Oberflächliche Beugesehne
p.o.	per os
%	Prozent
ROI	region of interest
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SDNR	Signaldifferenz-Rausch-Verhältnis (signal difference to noise ratio)
SI	Signalintensität (signal intensity)
SNR	Signal-Rausch-Verhältnis (signal to noise ratio)
STIR	short τ inversion recovery
T	Tesla
TBS	Tiefe Beugesehne
TE	Echozeit (time to echo)
TI	Inversionszeit (inversion time)
TM	Masson Trichrom Färbung
TR	Repetitionszeit (time to repeat)
T ₁ w	T ₁ gewichtet
T ₂ w	T ₂ gewichtet
T ₂ *w	T ₂ * (sprich: Stern) gewichtet
qmm	Quadratmillimeter
vs	versus

1 EINLEITUNG

Sehnenerkrankungen sind bei Pferden ein weit verbreitetes Problem. Durch fehlende oder unzureichende Diagnostik ist nach einer Therapie eine weitere Nutzung oft nur noch eingeschränkt möglich. Die Oberflächliche Beugesehne (OBS) des Pferdes ist außerdem ein ausgezeichnetes Modell für die Achillessehne des Menschen (PATTERSON-KANE et al. 2012), wodurch sie auch für die humanmedizinische Forschung relevant ist. Umso wichtiger ist es sich der Weiterentwicklung im Bereich der Diagnosestellung und möglicher neuer Therapien zu widmen.

Der Einsatz von Ultraschalluntersuchungen und Magnetresonanztomographien hat in den letzten Jahren im Pferdebereich erhebliche Fortschritte gemacht. KLEITER et al. (1999) berichteten noch von einem geringen Einsatz der Magnetresonanztomographie (MRT) im klinischen Alltag, bedingt durch fehlende Verfügbarkeit und hohe Kosten. Mittlerweile gibt es 9 Standorte in Deutschland, an denen MRT-Untersuchungen am stehenden Pferd möglich sind. Diese sind aus allen Bundesländern gut zu erreichen. Durch die Entwicklung des Hallmarq Equine Limb Scanners® ist es nicht mehr nötig die Pferde in Allgemeinanästhesie zu versetzen, um eine Gliedmaße zu scannen. Dadurch wurde die orthopädische Diagnostik erheblich kosten- und risikoärmer als zuvor.

Die Ultraschalluntersuchung der Pferdegliedmaße wird von vielen Tierärzten durch die Einteilung in 7 Zonen (1a bis 3c) (RANTANEN et al. 2011) standardisiert vorgenommen (BERNER et al. 2016, ESTRADA et al. 2014, KASASHIMA et al. 2002, PADALIYA et al. 2015). Dadurch sind diese Daten gut untereinander vergleichbar. Bei den Untersuchungen mittels MRT gibt es jedoch beträchtliche Unterschiede im Hinblick auf die präferierten Sequenzen und die Auswertung der am Bild erhobenen Daten. In der vorliegenden Studie wurden 4 MRT-Sequenzen ausgewertet: T_1 gewichtete Gradienten-Echo-Sequenz (T_1w GRE), T_2 gewichtete Fast-Spin-Echo-Sequenz (T_2w FSE), T_2^* gewichtete (T_2^*w) GRE und short- τ -inversion-recovery-Sequenz (STIR). MILNER et al. (2012) und SHERLOCK et al. (2015) verwandten für Ihre Studien zur Tiefen Beugesehne (TBS) des Pferdes vergleichbare Sequenzen. KARLIN et al. (2011) und SCHRAMME et al. (2010) fertigten keine T_2^*w Sequenzen in ihren Studien zur TBS des Pferdes an, wobei SCHRAMME et al. (2010) zusätzliche fast low angle shot Sequenzen (FLASH) benutzten. Diese wurden zuvor in humanmedizinischen Studien zu Erkrankungen der Achillessehne von KARLAJANEN et al. (2000) und SHALABI et al. (2004) beschrieben. Klinische Studien, wie von KASASHIMA et al. (2002), beschränken sich sogar oftmals nur auf T_1w und T_2w Sequenzen. Desweiteren unterscheiden sich die Auswertungen des angefertigten Bildmaterials zwischen den einzelnen Studien beträchtlich. So wird das Ausmaß von Sehne und Läsion einerseits als Fläche (KARLIN et al. 2011) und andererseits als Volumen (MILNER et al. 2012, SCHRAMME et al. 2010) angegeben. Auch die Standardisierung der gemessenen Signalintensitäten (SI) zu einem konstanten Bildpunkt wird durch unterschiedlichste Berechnungsformeln erzielt

(MILNER et al 2012, KARLIN et al. 2011, SCHRAMME et al. 2010), beziehungsweise nach einem subjektiven Schema in gering, mittel und hoch eingeteilt (KARLAJANEN et al 2000). Hierbei stellt sich vor allem die Frage nach der Vergleichbarkeit der errechneten Werte aus unterschiedlichen Studien.

In der zugrundeliegenden Studie wurde über einen Zeitraum von 24 Wochen die Sehnenheilung des Pferdes am Beispiel der OBS mittels MRT und Ultraschall verfolgt. Für die vorliegende Arbeit wurde das entstandene Bildmaterial mit Hilfe verschiedener quantitativer Verfahren ausgewertet. Mit den daraus ermittelten Werten konnte die Vergleichbarkeit von MRT und Ultraschall und auch der MRT-Sequenzen untereinander beurteilt werden. Desweiteren wurde untersucht, ob es signifikante Unterschiede gibt, wenn die SI der Sehnenläsion auf unterschiedliche Weisen im MRT-Bild bestimmt wird. Damit wurden die in der Literatur beschriebenen verschiedenen Methoden zur Standardisierung von SI verglichen und darüber hinaus die Aussagekraft einer automatisierten Bildanalyse untersucht.

Ziel dieser Arbeit war es, ein Auswertungsverfahren zu identifizieren, welches bei der Untersuchung von Sehnenerkrankungen mittels den bildgebenden Verfahren Ultraschall und MRT sowohl zuverlässige und vergleichbare Ergebnisse liefert als auch zeiteffizient umsetzbar ist.

Hierzu wurden für diese Arbeit folgende Fragestellungen formuliert:

- Welche Berechnungsformel und Referenzmessung sollten zur Standardisierung der SI einer Sehnenläsion im MRT-Bild herangezogen werden, um eine bestmögliche Korrelation der Ergebnisse mit entsprechenden histologischen Ergebnissen zu erhalten?
- Wie sollte die region of interest (ROI), innerhalb derer die SI einer Sehnenläsion im MRT bestimmt wird, definiert werden, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten?
- Ergibt die Messung der cross section area (CSA) der Sehnenläsion im Läsionsmaximum Ergebnisse, die repräsentativ sind für die gesamte Sehnenläsion?
- Ist es möglich die Messungen der SI, der CSA der Läsion und dem daraus resultierenden Läsionsvolumen im MRT-Bild automatisiert mittels eines wissenschaftlichen Algebra-Systems (Mathematica Software) durchzuführen?
- Welche der verwendeten Untersuchungsmethoden (Ultraschall, MRT-Sequenzen: T_1 , T_2 , T_2^* und STIR) eignen sich am besten für die Diagnose einer Sehnenläsion und die Beurteilung deren Heilungsverlaufes?

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Anatomie der Beugesehnen der Vordergliedmaße des Pferdes

Am Unterarm des Pferdes lassen sich 4 Flexoren differenzieren. Der Musculus flexor digitalis superficialis erstreckt sich vom medialen Epicondylus des Humerus zum distalen Ende des Fesselbeines und zur Kronbeinlehne. Seine Endsehne stellt die OBS dar und ist, durch den Nervus ulnaris innerviert, für das Beugen von Karpal- und Zehengelenken zuständig (BUDRAS et al. 2009; SALOMON et al. 2008). Beim Aufußen des Beines nimmt die OBS als erste unter den Flexoren Last auf (PATTERSON-KANE et al. 2009). Die TBS wird durch den Musculus flexor digitalis profundus gebildet. Sie entspringt mit drei Köpfen an Humerus, Ulna und Radius und findet den gemeinsamen Ansatz an der Hufbeinlehne. Dadurch kann eine Flexion bis ins Hufgelenk erfolgen (BUDRAS et al. 2009; SALOMON et al. 2008). In ihrem Verlauf erhält sie ein Ligamentum accessorium vom Karpus. Die Innervation wird durch die Nervi ulnaris und medianus gewährleistet.

Vom distalen Röhrbein bis zum Hufbein existiert ein Fasziengeflecht, die Fascia manus, welches für das reibungslose Gleiten der Beugesehnen sorgt. Palmar am Fesselkopf befindet sich das Ligamentum anulare palmare, das auch als Fesselringband bezeichnet wird. Die Fesselbeuge überspannend befindet sich die Pars cruciformis fasciae manus. Diese sogenannte Fesselplatte ähnelt in ihrer Form einem X. Die proximalen Enden sind mit dem Fesselbein verbunden und die beiden distalen Enden vereinigen sich mit den Endschenkeln der OBS. An dieser Stelle besteht außerdem eine Verbindung zum Ligamentum anulare digiti, der Sohlenbinde. Diese zieht bis ans Hufbein und bildet so einen Schutz für die TBS (BUDRAS et al. 2009; SALOMON et al. 2008).

Um die Gleitfähigkeit am Umschlagpunkt des Fesselkopfes noch zu erhöhen verlaufen die Sehnen in einer gemeinsamen Fesselbeugesehnnenscheide. Sie reicht proximal bis zu den Griffelbeinknöpfchen und distal bis zum Kronbein (BUDRAS et al. 2009). So kann unter Belastung eine elastische Dehnung von bis zu 16,6 % stattfinden (DOWLING et al. 2000; PATTERSON-KANE et al. 2009).

2.2 Erkrankungen der OBS des Pferdes

Zu dem Thema der Sehnenerkrankungen beim Pferd wird weltweit seit vielen Jahren intensive Forschung betrieben. Bedingt durch den anatomischen Bau und die Lastenverteilung von 60 % für die Vorhand und 40 % für die Nachhand treten 95 % der Sehnenschäden an den Vordergliedmaßen auf (ROSS 2011; ESTRADA et al. 2014). Prädisponiert scheinen vor allem sportlich genutzte Tiere zu sein. Speziell für die Tendinopathie der OBS des Pferdes werden Inzidenzen von bis zu 30 % (PATTERSON-KANE et al. 2009) beziehungsweise 43 % (DOWLING et al. 2000; ROSS et al. 2011) bei Rennpferden beschrieben. In den anderen gängigen Disziplinen (Dressur, Springen,

Vielseitigkeit) ist für die Vielseitigkeit das vergleichsweise höchste Risiko beschrieben (ROSS et al. 2011), dessen Ursache in der Dauer eines solchen Wettkampfes über drei Tage zu liegen scheint. KING et al (2013) führten eine Studie über die Ursache von Lahmheiten mit Lokalisation in der metacarpalen und metatarsalen Region an 232 Pferden durch. Die Tierpopulation bestand dabei aus Pferden unterschiedlichster Rassen, darunter 78 Quarter Horses, 69 Warmblüter und 43 Vollblüter. Unter allen Lahmheiten wurden bei 10 Tieren Schäden an der OBS diagnostiziert. Prädisponierend wirkt jedoch nicht nur die sportliche Höchstleistung an sich. Bei englischen Vollblütern wird auch ein genetischer Einfluss vermutet (ROSS et al. 2011). Außerdem sind die äußeren Faktoren wie Hufbeschlag, Trainingsmethoden und die Vereinbarkeit von physischen Möglichkeiten und Anforderungen von Bedeutung. Klinisch machen sich akute Sehnenläsionen vor allem durch Lahmheit bemerkbar. Weitere mögliche Anzeichen können hinweisend sein, treten aber nicht bei allen Tieren auf. Dazu zählt die lokale Wärmeentwicklung und Schwellung des umliegenden Gewebes. Diese Parameter können zum Beispiel durch falsches Bandagieren sowohl unterdrückt als auch erzeugt werden und sind daher unter Berücksichtigung dessen zu bewerten. Eine Umfangsvermehrung des geschädigten Sehnenteiles tritt im akuten Stadium immer auf, ist jedoch teilweise nicht palpatorisch festzustellen. Ein Palpationsschmerz kann aber auf der betreffenden Stelle meist ausgelöst werden. (ROSS et al. 2011)

2.3 Bildgebende Verfahren bei Sehnenerkrankungen

2.3.1 Magnetresonanztomographie

Die folgenden Kapitel 2.3.1.1 bis 2.3.1.6 basieren auf Grundlagenwissen der MRT. Als Basisliteratur wurden MURRAY (2011), MURRAY et al. (2011) und SCHILD (1997) verwendet. Direkte Zitate sind im Text separat gekennzeichnet.

2.3.1.1 Einleitung

Die MRT wird bereits seit fast 50 Jahren in der Humanmedizin als diagnostisches Bildgebungsverfahren eingesetzt. Bei diesem nichtinvasiven Schnittbildverfahren, welches auf Magnetfeldern und Radiowellen beruht, entsteht keine ionisierende Strahlung. Lange Zeit wurden in der Veterinärmedizin die für die Humanmedizin entwickelten Geräte verwendet. Für die Diagnostik am Pferd bedeutete das immer die Notwendigkeit einer Allgemeinanästhesie, welche mit hohen Kosten und einem hohen Narkose- und Aufstehrisiko einhergingen. Seit einigen Jahren gibt es den speziell für die Pferdegliedmaße entwickelten Hallmarq Equine Limb Scanner®. Mit diesem ist eine Untersuchung am stehenden sedierten Pferd möglich. Ein dadurch entstehender Nachteil sind mögliche Bildartefakte durch Bewegung von Seiten des Pferdes. In Deutschland gibt es mittlerweile 9 Pferdekliniken, die ein solches Untersuchungsverfahren anbieten.

2.3.1.2 Physikalische Grundlagen

Ein jedes Atom setzt sich aus einem Atomkern, der aus Protonen besteht, und den darum kreisenden Elektronen zusammen. Bei Atomkernen mit ungerader Protonenzahl lässt sich ein Eigendrehimpuls, der sogenannte Kernspin, nachweisen. Durch diese Bewegung der elektrischen Ladung entsteht ein elektrischer Strom. Ein elektrischer Strom erzeugt immer ein Magnetfeld.

In der MRT wird der Gehalt an Wasserstoffatomen gemessen, da diese in den Geweben am häufigsten vorkommen. Jedes Wasserstoffatom besitzt ein Proton und somit ein internes Magnetfeld. Bringt man dieses in ein externes Magnetfeld, wie es der Magnetresonanztomograph erzeugt, richtet es sich feldparallel aus. Dabei gibt es zwei Möglichkeiten der Ausrichtung: parallel und antiparallel. Die parallele Ausrichtung erfordert dabei weniger Energie und wird daher von den Protonen bevorzugt. Parallel und antiparallel ausgerichtete Protonen heben ihre Wirkung gegenseitig auf, sodass nur die Differenz (bei 1 Tesla: 1'000'007 parallel und 1'000'000 antiparallel; Differenz 7 Protonen) für die MRT nutzbar ist.

Genauer betrachtet ist jedes Proton nicht statisch ausgerichtet, sondern bewegt sich aufgrund des Kernspins wie ein Kreisel an seinem Platz. Diese Bewegung wird Präzession genannt. Die Präzessionsfrequenz lässt sich mit Hilfe der Larmor-Gleichung berechnen:

$$\omega^0 = \gamma \times B^0$$

Dabei ist ω_0 die Präzessionsfrequenz in Megahertz [MHz], γ das gyromagnetische Verhältnis für das Atom und B_0 die Stärke des Magnetfeldes in Tesla [T].

2.3.1.3 Der Resonanzeffekt

Durch die Ausrichtung der Protonen in Längsrichtung des externen Magnetfeldes entsteht die so genannte Longitudinalmagnetisierung. Diese ist nicht direkt messbar, da beide in derselben Richtung verlaufen. Um ein detektierbares Signal zu erhalten werden die Protonen mittels eines Hochfrequenzimpulses aus der parallelen Anordnung heraus geklappt. Dadurch wird einerseits die Longitudinalmagnetisierung verringert und andererseits entsteht eine Transversalmagnetisierung, weil die Protonen in ihrer Präzessionsbewegung synchronisiert werden. Damit die Energie des Hochfrequenzimpulses auf die Protonen übertragen werden kann, muss die eingestrahlte Frequenz der zuvor nach der Larmor-Gleichung berechneten Präzessionsfrequenz entsprechen. Nur so können die Protonen durch Energieübertragung aus der Longitudinalmagnetisierung abgelenkt werden. Diesen Vorgang bezeichnet man als Resonanz. Für den Grad der Auslenkung der Protonen sind dabei die Dauer und die Stärke des Hochfrequenzimpulses entscheidend.

2.3.1.4 Die Relaxation

Kein Proton bleibt länger als nötig auf einem erhöhten Energieniveau. Daher beginnt nach jeder Anregung der Vorgang der Relaxation um auf das Ausgangsenergieniveau zurück zu kehren. Dabei kann man die Longitudinal- und Transversalrelaxation unterscheiden.

Die Longitudinalrelaxation beschreibt wie nach Ende des Hochfrequenzimpulses die abgelenkten Protonen wieder in die Ausgangslage parallel zum externen Magnetfeld zurückfallen. Dabei geben sie Energie an ihre Umgebung ab. Mit der Relaxation steigt die Longitudinalmagnetisierung wieder auf ihren Ausgangswert. Diese Dauer wird mit der Zeitkonstante T_1 (longitudinale Relaxationszeit) beschrieben. Hier besteht eine starke Abhängigkeit von der Art des umliegenden Gewebes und der Bindung der Wasserstoffatome. Bei wasserreichen Geweben ist die T_1 vergleichsweise lang, da die Energieübertragung zwischen den kleinen Wassermolekülen, die sich sehr schnell bewegen, schwieriger ist. Besteht die Umgebung hingegen aus größeren Molekülen, welche sich nahe der Larmor-Frequenz bewegen, kann die Energie sehr viel schneller übertragen werden und T_1 ist dem entsprechend kürzer.

Die Transversalrelaxation beginnt ebenfalls unmittelbar nach Abschalten des Hochfrequenzimpulses. Zu diesem Zeitpunkt drehen alle Protonen synchron. Sie sind in Phase. Bei Wegfall des Impulses fallen nach und nach Protonen aus der Phase, da sie unterschiedliche Präzessionsfrequenzen aufweisen. Dadurch heben sich die Signale auf, die gerade in entgegengesetzten Positionen ihrer Spins sind. Mit abnehmender Synchronität sinkt daher auch die Transversalmagnetisierung auf ihren Ausgangswert. Diese Dauer wird mit der Zeitkonstante T_2 (transversale Relaxationszeit) beschrieben. Sie ist durch die Wechselwirkungen der Protonen untereinander bedingt. Bei Geweben, die aus vielen gleichen Molekülen bestehen, hält die Synchronität länger an, da gleiche Moleküle auch gleiche Präzessionsfrequenzen aufweisen. Besteht das Gewebe jedoch aus vielen unterschiedlichen Molekülen wird die Transversalmagnetisierung schnell nachlassen, da bei den individuellen Präzessionsbewegungen die Synchronität schnell verloren geht. Die transversale Relaxation wird außerdem von äußeren Parametern durch den Probanden und den Tomographen selbst beeinflusst. Dadurch entstehende Inhomogenitäten führen dazu, dass die Protonen noch schneller außer Phase geraten. Die dafür beschriebene Zeitkonstante wird mit T_2^* (sprich: T_2 Stern) bezeichnet.

T_1 ist dabei länger als T_2 und T_2^* .

2.3.1.5 Bildkontrastdarstellung

Stellt man sich die Magnetisierung als Summenvektor in einem Diagramm vor, wird nach Zuschalten des Hochfrequenz-Impulses der Vektor von longitudinal in Richtung transversal gekippt. Geschieht das in einem rechten Winkel spricht man auch von einem 90° -Impuls.

Dieser Vektor der Magnetisierung ist es auch, der als Signal für die Entstehung des MRT-Bildes dient. Unterschiedliche Gewebe ergeben unterschiedliche SI, die nach Detektion durch eine Antenne den Bildkontrast beeinflussen.

2.3.1.5.1 T_1 -gewichtete Bilder

Werden mehrere Impulse nacheinander ausgesandt, spricht man von einer Puls-Sequenz. Der Abstand zwischen zwei Impulsen ist dabei die Repetitionszeit, oder time to repeat (TR). Das vom Gewebe erzeugte Signal kann durch Wahl der richtigen TR verstärkt werden. Wählt man beispielsweise eine lange TR zwischen zwei 90° -Impulsen, haben alle Gewebe ihre Relaxation bereits abgeschlossen, wenn der zweite Impuls ausgestrahlt wird. Dadurch wird das zweite empfangene Signal identisch zum ersten sein. Bei einer kurzen TR sind bei Beginn des zweiten 90° -Impulses einige Gewebe wieder auf ihrem Ausgangsenergieniveau, andere befinden sich noch in der longitudinalen Relaxationszeit. Durch den erneuten Impuls werden nun alle Vektoren erneut um 90° abgelenkt. Die zuvor noch nicht relaxierten Protonen senden dadurch beim zweiten Impuls ein stärkeres Signal aus. Somit ist es durch kurze TR möglich den Bildkontrast zwischen ähnlichen Geweben zu erhöhen. Da die unterschiedlichen Signalstärken bei kurzer TR auf die gewebespezifischen T_1 -Werte zurückzuführen sind, nennt man die so entstandenen Bilder T_1 -gewichtete.

2.3.1.5.2 T_2 -gewichtete Bilder

Wählt man nach einem 90° -Impuls einen 180° -Impuls, hat dieser zur Folge, dass sich die Präzessionsbewegungen der Protonen umdrehen. Nach genau der gleichen Zeit, welche zwischen den beiden Impulsen lag, sind dann alle Protonen wieder in synchroner Präzession. Dadurch wird der T_2 -Wert ähnlich eines Echos reproduziert. Dieses Signal ist das sogenannte Spin-Echo. Die Zeit zwischen dem 90° -Impuls und dem Spin-Echo wird als Echozeit oder time to echo (TE) bezeichnet. Je kürzer man TE wählt, desto stärker ist das Spin-Echo. Um jedoch den Bildkontrast für Gewebe mit unterschiedlichen T_2 -Werten zu erhöhen, ist es besser eine längere TE abzuwarten, da dadurch die Signalunterschiede deutlicher sind. Auf diese Weise erzeugte Bilder nennt man T_2 -gewichtete. Zu vermeiden ist jedoch auch eine zu lange TE, da die Signalstärken dann zu gering werden und sie nicht mehr vom Hintergrundrauschen differenziert werden können.

2.3.1.5.3 Protonendichte-gewichtete Bilder

Bilder, die durch eine lange TR und eine kurze TE weder T_1 - noch T_2 -gewichtete sind werden als protonendichte-gewichtete Bilder bezeichnet. Hier wird der Bildkontrast durch die Protonendichte beeinflusst, sodass das Signal umso stärker ist, je mehr Protonen im Gewebe enthalten sind.

Als Richtwerte kann man eine TR von unter 500 ms als kurz und von über 1500 ms als lang bezeichnen. Bei der TE gelten weniger als 30 ms als kurz und mehr als 80 ms als lang (SCHILD 1997).

2.3.1.6 Sequenzen

2.3.1.6.1 Saturation-Recovery- und Partial-Saturation- Sequenzen

Saturation-Sequenzen bestehen grundsätzlich aus aufeinanderfolgenden 90° -Impulsen. Wenn man dabei eine lange TR wählt, ist die Longitudinalmagnetisierung vor dem Eintreffen des zweiten Impulses bereits wieder auf ihrem Ausgangswert. Das detektierte Signal wird somit vor allem durch die Protonendichte beeinflusst. Hierbei spricht man von der Saturation-Recovery-Sequenz. Verkürzt man die TR so sind zum Zeitpunkt des zweiten Impulses noch nicht alle Protonen relaxiert. So entstandene Bilder sind T_1 -gewichtet und werden den Partial-Saturation-Sequenzen zugeordnet.

2.3.1.6.2 Spin-Echo-Sequenzen

Bei den Spin-Echo-Sequenzen wird nach einem anfänglichen 90° -Impuls ein 180° -Impuls ausgesandt. Der 90° -Impuls erzeugt dabei die transversale Magnetisierung. Direkt nach dem Ende des ersten Impulses beginnen die Protonen außer Phase zu geraten. Nach einer Zeit $TE/2$ wird der 180° -Impuls eingestrahlt, der die Spinbewegungen der Protonen umkehrt. Dadurch wird nach einer Zeit, die erneut $TE/2$ beträgt, wieder ein Maximum an transversaler Magnetisierung erreicht und zusätzlich die durch externe Inhomogenitäten auftretenden T_2^* -Effekte minimiert. Das Spin-Echo ist umso stärker, je kürzer TE ist. Allerdings wird bei zu kurzer TE der Bildkontrast zu gering. Bis zum Eintreffen des Spin-Echos vergeht verhältnismäßig viel Zeit, wodurch die Spin-Echo-Sequenzen sehr anfällig für Bewegungsartefakte sind.

2.3.1.6.3 Gradienten-Echo-Sequenzen

Die Gradienten-Echo-Sequenzen (GRE-Sequenzen) erzeugt ebenfalls ein Echo, welches jedoch nicht durch einen zweiten Impuls, der die Untersuchungszeit verlängert, erzeugt wird. An Stelle des 180° -Impulses wird ein Gradientenfeld verwendet. Hierbei handelt es sich um ein zweites Magnetfeld, was mittels einer Gradientenspule erzeugt wird. Das führt dazu, dass die Protonen schneller außer Phase geraten. Schaltet man nun das Gradientenfeld ab und kurz darauf in umgekehrter Richtung wieder an, wird ein Echo erzeugt, welches dem der Spin-Echo-Sequenz ähnelt. Ein großer Vorteil dieser Methode ist jedoch die kürzere Messzeit.

2.3.1.6.4 Inversions-Recovery-Sequenzen

Bei dieser Sequenz wird genau andersherum als bei der Spin-Echo-Sequenz verfahren. So wird zunächst ein 180° -Impuls und nach einer definierten Zeitspanne ein 90° -Impuls ausgesandt. Die Zeit zwischen beiden Impulsen wird als Inversionszeit oder inversion

time (TI) bezeichnet. Durch den ersten Impuls wird die Longitudinalmagnetisierung um 180° gedreht. Danach relaxieren die Gewebe je nach ihren T_1 -Werten wieder unterschiedlich schnell. Beim folgende 90° -Impuls starten die unterschiedlichen Gewebe daher mit verschiedenen Ausgangsvektoren. Der Bildkontrast wird dadurch auf Grundlage unterschiedlicher T_1 -Werte verstärkt, jedoch noch effektiver als bei normalen T_1 -gewichteten Sequenzen.

Durch gezielte Wahl der TI ist es hier sogar möglich bestimmte Gewebe komplett signallos erscheinen zu lassen. Das ist der Fall, wenn der 90° -Impuls genau zu dem Zeitpunkt einstrahlt, wenn die longitudinale Magnetisierung des betreffenden Gewebes gerade am Wendepunkt also gleich Null ist.

Praktische Anwendung finden in der Medizin die fettunterdrückte short τ inversion recovery-Sequenz (STIR-Sequenz) oder die liquorunterdrückte fluid attenuated inversion recovery-Sequenz (FLAIR-Sequenz).

2.3.1.6.5 Schnelle Sequenzen

Alle bisher besprochenen Sequenzen benötigen sehr viel Zeit in der Entstehung. Dadurch sind sie sehr anfällig für Artefakte durch Bewegungen wie Atmung, Herzschlag und Blutfluss in den Gefäßen. Deshalb wurden Lösungen entwickelt, die es erlauben schnellere Sequenzen zu fahren. Die TR lässt sich nicht beliebig verkürzen, da das immer zu Lasten des Kontrastes geht. Wenn jedoch der Winkel des Hochfrequenzsignales geringer ist, geschieht auch die longitudinale Relaxation schneller. Bei der Verwendung solcher Flip-Winkel kann daher auch die TR verhältnismäßig kürzer gewählt werden. Ein Beispiel für solche schnellen Sequenzen ist die fast low angle shot-Sequenz (FLASH-Sequenz). Eine weitere Möglichkeit ist die Zuschaltung eines Gradientenfeldes an Stelle des 180° -Impulses. Durch das Gradientenfeld werden die Protonen schneller aus der synchronen Phase gebracht, wodurch das Signal schneller abnimmt. Dann wird das Gradientenfeld in entgegengesetzter Richtung zugeschaltet und der Effekt ist ähnlich dem eines 180° -Impulses. Das entstehende Echo wird Gradienten-Echo genannt und stellt gleichermaßen eine Verstärkung des Signals dar.

(2.3.1.1 bis 2.3.1.6: MURRAY 2011; MURRAY et al. 2011; SCHILD 1997)

2.3.1.7 Sehnengewebe im MRT-Bild und Bildauswertung

Im MRT-Bild kann man für die Sehne und eine etwaige Läsion verschiedene Parameter zur Beurteilung heranziehen. Am häufigsten kommen dabei die Bestimmung der SI und die Messung der CSA zum Einsatz.

Die gesunde Sehne stellt sich im MRT-Bild mit sehr geringer SI dar. Sowohl in T_1 - als auch in T_2 -gewichteten Bildern erscheint sie nahezu schwarz (MURRAY et al. 2011). Eine Läsion des Sehnengewebes stellt sich im akuten Stadium in allen Sequenzen mit erhöhter SI dar (BERNER et al. 2016; KARJALAINEN et al. 2000; KARLIN et al. 2011;

KASASHIMA et al. 2002; KING et al. 2013; MILNER et al. 2012; MURRAY et al. 2011; SCHRAMME et al. 2010). Bei der Frage nach der besten Sequenz herrscht jedoch in der Literatur Uneinigkeit. Während BERNER et al. (2016), KARLIN et al. (2011), KASASHIMA et al. (2002), KING et al. (2013) und MURRAY et al. (2011) für akute Läsionen T_1 - und T_2 -gewichtete Bilder und zum Teil auch STIR-Sequenzen als diagnostisch gut verwertbar beschreiben, legen sich MILNER et al. (2012) auf die T_2^* -Sequenz und KARJALAINEN et al. (2000) beziehungsweise SCHRAMME et al. (2010) auf die FLASH-Sequenz fest. Über die Zeit nimmt in einer Sehnenläsion mit dem Abklingen der Entzündung der Gehalt an Flüssigkeit ab und die Fibrose des Gewebes zu. Durch den sinkenden Wassergehalt lässt im T_2 -gewichteten Bild die SI schnell nach (BERNER et al. 2016; KARJALAINEN et al. 2000; KARLIN et al. 2011; KASASHIMA et al. 2002; MURRAY et al. 2011). Im T_1 -gewichteten Bild hingegen hebt sich die Fibrose durch ihre differente Faserstruktur vom gesunden Sehnengewebe ab.

SCHRAMME et al. (2010) fanden nach einer Studiendauer von 12 Wochen an der OBS des Pferdes in der T_2 -Sequenz keine nachweisbare Läsion mehr. In der T_1 -, FLASH und Protonengewichteten-Sequenz blieb hingegen eine erhöhte SI bis zum Schluss erhalten, was mit den histologischen Befunden besser korrelierte. Bei SHALABI et al. (2004) waren mittels MRT an induzierten humanen Achillessehnenläsionen nach 3 Monaten die SI noch sehr hoch, nach 7 Monaten deutlich gesunken und nach einem Jahr völlig verschwunden.

Bei dem Vergleich der Studienergebnisse untereinander ist jedoch darauf hinzuweisen, dass die SI auf ganz verschiedene Weisen bestimmt werden. So kann die reine SI der Läsion als Mittelwert der Fläche oder als Maximalwert eingefügt sein. Wird ein Mittelwert verwendet, stellt sich die Frage nach der Größe der ausgemessenen Fläche. Beinhaltet sie die gesamte Läsion oder nur das Zentrum? Der so bestimmte Wert ist jedoch von zu vielen technischen Parametern abhängig, weshalb er von fast allen Autoren einer Standardisierung unterzogen wird. So verwandten KRUGER et al. (2000) das Signaldifferenz-Rausch-Verhältnis (SDNR), bei dem die SI der OBS von der SI der Läsion subtrahiert wird und anschließend durch das Signal des Hintergrundes dividiert wird. Sie untersuchten die Korrelation dieser SDNR mit dem Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) bei dem lediglich die SI der Läsion durch das Signal des Hintergrundes dividiert wird. SCHRAMME et al. (2010) benutzten anstatt der SI der OBS die der TBS. KARLIN et al. (2011) setzten zwei identisch große Fenster in die Läsion und in den Hintergrund und dividierten deren SI-Mittelwerte miteinander. MILNER et al. (2012) verwandten anstatt des Hintergrundes die Kortikalis des Röhrbeines, da sie die Struktur des Knochens als über sehr lange Zeit konstant betrachteten. WATTS et al. (2012) benutzten als Referenzintensität das Knochenmark, wobei in dieser Studie nur T_1 -Sequenzen angefertigt wurden. Die Bewertung fand hier mittels eines subjektiven Scoring-Systems, das auf hypo-, iso- und hyperintens beruhte, statt.

Der zweite Parameter, der neben der SI im MRT-Bild zu erheben ist, ist die CSA. Hierbei kann zwischen der CSA der Sehne und der CSA der Läsion unterteilt werden.

Die Werte werden auch hier, je nach Autor, unterschiedlich standardisiert. So erhält man entweder Flächenwerte für jede Schnittebene (KARLIN et al. 2011) oder nach Berechnung auf die Schichtdicke eine Volumenangabe (MILNER et al. 2012; SCHRAMME et al. 2010; SHALABI et al. 2004).

2.3.2 Ultraschall

Die folgenden Kapitel 2.3.2.1 bis 2.3.2.6 basieren auf Grundlagenwissen zu Ultraschalluntersuchungen. Als Basisliteratur wurden KIDD et al. (2014) und RANTANEN et al. (2011) verwendet. Direkte Zitate sind im Text separat gekennzeichnet.

2.3.2.1 Einleitung

Die Sonographie ist ein diagnostisches Bildgebungsverfahren, welches aus der Medizin nicht mehr weg zu denken ist. Es ist eine nicht invasive, kostengünstige und schnelle Untersuchungstechnik, die noch dazu ohne Strahlenbelastung auskommt und für die in der Regel keine Narkose des Patienten nötig ist. Durch schnelle Bildfolgen sind Bewegungsmuster darstellbar, welche vor allem in der Kardiologie von großer Bedeutung sind. Limitationen findet die Sonographie bei zu großen Eindringtiefen und dem Auftreffen auf stark reflektierende Gewebe. Durch die vergleichsweise geringen Anschaffungskosten und die bereits genannten Vorteile für den Patienten und Patientenbesitzer wird die Sonographie nicht nur in spezialisierten Kliniken, sondern auch von vielen kleineren Tierarztpraxen angeboten. Jedoch sind die Ergebnisse stark von der Erfahrung und den Fertigkeiten des Untersuchers abhängig, da kleinste Bewegungen das entstehende Bild beeinflussen.

2.3.2.2 Physikalische Grundlagen

Ultraschalluntersuchungen sind Schnittbildverfahren, die auf der Grundlage von Schallwellen beruhen. Dabei gibt es drei Parameter, die eine solche Schallwelle charakterisieren: die Frequenz, die Wellenlänge und die Schallgeschwindigkeit. Die Frequenz f beschreibt die Anzahl der Schwingungen pro Sekunde in Hertz [Hz]. Der Abstand zwischen zwei Schwingungsmaxima wird als Wellenlänge λ in Millimeter [mm] bezeichnet. Die Schallgeschwindigkeit v ist das Produkt aus beiden und beschreibt damit die Schnelligkeit der sich ausbreitenden Welle in Meter pro Sekunde [m/s]. Damit gilt:

$$v = f \times \lambda$$

Für die Sonographie sind typische Werte Frequenzen von 1 bis 100 MHz und Wellenlängen von 0,1 bis 1 mm. Die Schallgeschwindigkeit hängt vor allem von der Dichte des Gewebes ab, so beträgt sie in Luft beispielsweise 331 m/s und in Knochen 3360 m/s. Das bedeutet, dass sich in einem Gewebe höhere Frequenzen mit kürzeren Wellenlängen fortbewegen.

2.3.2.3 Technische Grundlagen

Die Bildentstehung mittels Ultraschall beruht wie die MRT auf einem Impuls-Echo-Prinzip. Vom Gerät werden über im Schallkopf befindliche piezoelektrische Kristalle Ultraschallimpulse ins Gewebe abgegeben und anschließend die reflektierten Echos empfangen. Durch die unterschiedlichen Zeiten bis zum Eintreffen des Echos kann der Abstand berechnet werden und die Menge der reflektierten Schallwellen lässt auf die Dichte des Gewebes schließen. Unterschiedlich dichte Gewebe werden unterschiedlich hell im Ultraschallbild wiedergegeben.

Bei den Schallköpfen unterscheidet man grundsätzlich den Linear- vom Konvexschallkopf. Im Linearschallkopf liegen mehrere piezoelektrische Kristalle in einer Linie, sodass die Ultraschallwellen parallel ins Gewebe laufen. Dadurch erreicht man auch in der Tiefe eine gute Auflösung, kann jedoch nur einen Bereich so groß wie der Ultraschallkopf abbilden. Beim Konvexschallkopf liegen die Kristalle in einer leicht nach außen gewölbten Linie, wodurch die Schallwellen sonnenstrahlenartig divergieren. Durch diese Anordnung ist es möglich in der Tiefe einen breiteren Bereich einzusehen, jedoch zu Lasten der Auflösung.

2.3.2.4 Bildarten

Als Bildarten bezeichnet man die unterschiedlichen Varianten, die empfangenen Signale bildlich darzustellen. Beim Amplitudenmodulierten Verfahren (A-Mode-Verfahren) wird an jeder Gewebegrenze die Menge der reflektierten Schallwellen gemessen und als Peak dargestellt. Dabei ist der Peak umso höher je stärker die Reflexion ist. Diese Darstellungsweise ist nur bei klar abgegrenzten Geweben sinnvoll und wird medizinisch lediglich in der Ophthalmologie eingesetzt. Das Brightness-Mode-Verfahren (B-Mode-Verfahren) ist die gängigste Darstellungsweise. Dabei wird die jeweilige Amplitude des Echos in Grauwerte umgerechnet. Hierbei gilt, je höher die Amplitude ist, desto heller ist auch der Bildpunkt. Für die Tiefendimension des Bildes wird die Zeit bis zum Eintreffen des Schallechos gemessen. Um Bewegungen wie die Herzaktivität über einen Zeitverlauf zu messen, steht das Motion-Mode-Verfahren (M-Mode-Verfahren) zur Verfügung. Ein manuell festgelegter Schnittpunkt wird wie im B-Mode-Verfahren dargestellt, jedoch fortlaufend auf einem Zeitstrahl. Bewegungsmuster sind so auf einem Bild nebeneinander darstellbar.

2.3.2.5 Doppler-Sonographie

Mit Hilfe des Doppler-Effektes ist es möglich Strömungsbewegungen zu detektieren und deren Flussrichtung darzustellen. Physikalisch beruht dieser Effekt darauf, dass eine Schallwelle unterschiedliche Frequenzen aufweist, wenn sie sich vom Schallkopf weg beziehungsweise auf den Schallkopf zu bewegt. Dadurch ist es möglich die Flussrichtung zu ermitteln und darzustellen. Anwendung findet dieses Verfahren bei der Untersuchung des Blutflusses in Gefäßen. Die dafür gängigste Darstellung ist die mittels Farbdoppler, bei der die Flussrichtung mit Hilfe eines Farbcodes abgebildet wird.

Auf das B-Mode-Bild aufgelagert wird üblicherweise Blutfluss zum Schallkopf hin blau und vom Schallkopf weg rot dargestellt. Die Farbcodierung ist jedoch beliebig an jedem Gerät einstellbar und obliegt so dem Untersucher.

2.3.2.6 Bildartefakte

Artefakte sind Erscheinungen im Ultraschallbild, die durch schlechte Ankopplung, fehlerhafte Einstellungen oder durch bestimmte Eigenschaften des Gewebes entstehen.

Bei den sogenannten Ankopplungsartefakten wird der Schall distal der Problemstelle völlig ausgelöscht. Das geschieht immer dann, wenn sich Luft zwischen Schallkopf und Proband befindet. Um dies zu verhindern ist eine gründliche Vorbereitung des Probanden unerlässlich.

Vom Rauschen im Bild spricht man, wenn durch falsche Bildeinstellung zu viele helle Bildpunkte dargestellt werden. Eigentlich klar definierte Grenzen werden so undeutlicher.

Anders verhält es sich bei stark reflektierenden Gewebegrenzen. Hier wird einerseits die auftreffende Ultraschallwelle reflektiert und so die Grenzlinie entsprechend ihrer anatomischen Lage im Bild dargestellt. Andererseits wird jedoch auch einen Teil der aus dem tieferliegenden Gewebe kommenden Echowellen reflektiert. Die Wellen, die zwischen zwei solchen Grenzen mehrmals hin und her reflektieren sind länger unterwegs. Das Ultraschallgerät detektiert daher eine Grenzschicht ähnlich der realen Grenze nur tiefer im Gewebe und weniger echogen. Diese Phänomene nennt man Wiederholungsartefakte.

Eine Sonderform dessen sind die Kometenschweifartefakte. Sie entstehen auf die gleiche Weise, jedoch handelt es sich hier bei der stark reflektierenden Struktur nicht um eine Gewebegrenze, sondern um ein lokal begrenztes Ereignis. So entsteht hinter einem im Darm gelegenen Luftbläschen oder hinter kleinen Metallstücken ein hyperechogener Bereich, der kometenschweifartig in die Tiefe zieht.

Auch eine Art Wiederholung ist das Spiegelartefakt, bei dem Strukturen, die anatomisch oberhalb einer stark reflektierenden Gewebegrenze liegen, spiegelverkehrt unterhalb dieser noch einmal abgebildet werden.

Sehr echoarme Gewebe wie Flüssigkeiten lassen im Vergleich zu echoreicheren Geweben mehr Ultraschall in das darunter liegende Gewebe. Dadurch ist an diesen Stellen mehr Schall zum Reflektieren vorhanden und es wird ein vergleichsweise stärkeres Echo zurückgesandt. So erscheint zum Beispiel in der Leber das distal der Gallenblase abgebildete Gewebe echogener als benachbarte Bereiche, obwohl sie eigentlich isoechogen wären. Man spricht bei diesen Artefakten von distaler Schallverstärkung. Das genau gegenteilige Phänomen ist der distale Schallschatten, bei dem hinter sehr echogenen Bereichen das Gewebe dunkler als normal erscheint.

Trifft die Ultraschallwelle in einem sehr spitzen Winkel auf die Wand eines Gewebes, kann man das sogenannte Tangentialphänomen beobachten. An diesen lateralen Gewebegrenzen werden die Schallwellen zur Seite gebrochen. So wird eine Harnblasenwand sich seitlich dünner darstellen, oder sogar gar nicht reflektieren. Zusätzlich entsteht eine distale Schallauslöschung, da keine Ultraschallwelle ins darunterliegende Gewebe geleitet wird.

Das Schichtdickenartefakt entsteht, da ein Bildpunkt den Mittelwert mehrerer empfangener Signale darstellt. Die Schichtdicke ist dabei frequenzabhängig und beträgt zumeist ein bis mehrere Millimeter. An Übergängen von zwei Geweben mit sehr unterschiedlichen Echogenitäten kann daher durch die Summation der Echowellen eine durchschnittliche Echogenität im Bild erscheinen.

Beim idealisierten Modell zur Entstehung eines Ultraschallbildes geht man von senkrechten Schallwellen aus, die nach Reflektion ebenso senkrecht wieder auf den Schallkopf treffen. In der Realität gibt es jedoch sogenannte Nebenkeulen. Damit bezeichnet man Schallwellen, die in einem anderen Winkel ins Gewebe abgestrahlt werden. Nach Reflektion treffen auch diese als Echo wieder am Schallkopf ein. Das Gerät unterscheidet nicht zwischen detektierten Signalen aus den senkrechten Schallwellen und den ungewollten Nebenkeulen. Im dargestellten Bild werden daher Bildpunkte durch Nebenkeulen aus der Umgebung an Stellen projiziert, wo sich eigentlich keine echogenen Strukturen befinden. Solch ein Nebenkeulenartefakt stellt beispielsweise der als Pseudoschludge bezeichnete, in Wirklichkeit nicht vorhandene, echoreiche Blaseninhalt dar.

(2.3.2.1 bis 2.3.2.6: KIDD et al. 2014; RANTANEN et al. 2011)

2.3.2.7 Sehnengewebe im Ultraschallbild und Bildauswertung

Um eine Sehne im Ultraschall zu beurteilen werden zumeist drei Parameter, die CSA, die Echogenität und der Faserverlauf beschrieben (KÜLLMER et al. 1994; PADALIYA et al 2015; RANTANEN et al. 2011; SCHRAMME et al 2010).

Bei der CSA handelt es sich um die Querschnittsfläche, die von der gesamten Sehne und von einer etwaigen Läsion ermittelt werden kann. PADALIYA et al. (2015) untersuchten die OBS und TBS von gesunden Pferden und stellten bei der Ermittlung von Normwerten eine Rasseabhängigkeit fest. Trotzdem beschreiben sie die CSA als aussagekräftigsten Parameter, der im Ultraschall zu erheben ist. Nach einem Trauma des Sehnengewebes nimmt die CSA zunächst über einen längeren Zeitraum durch das Entzündungsgeschehen zu. Bei SCHRAMME et al. (2010) erreicht die CSA am Tag 35 ± 7 ihren Maximalwert, um dann ab der 8. Woche nach dem Trauma deutlich zu sinken.

Die Echogenität von Sehnengewebe im Ultraschall ist sehr stark vom Winkel des Ultraschallkopfes zum Gewebeverlauf abhängig. Um also vergleichbare Bilder zu erhalten, ist es wichtig immer den gleichen Winkel zu verwenden. Eine physiologische Sehne stellt sich im Ultraschallbild hell dar. Um pathologische Veränderungen zu

bewerten, wird der Normalzustand als isoechogen bezeichnet (RANTANEN et al. 2011). Akute Läsionen stellen sich im Vergleich dazu hypoechogen oder sogar anechogen dar. Chronische Läsionen hingegen erscheinen durch die Bildung von Narbengewebe oder Einlagerung mineralischer Bestandteile hyperechogen (RANTANEN et al. 2011). Die Zunahme der Echogenität kann dabei bereits ab der zweiten Woche nach dem Trauma beobachtet werden (KÜLLMER et al. 1994; SCHRAMME et al. 2010; WATTS et al. 2012).

Beim Faserverlauf handelt es sich ebenfalls um einen Parameter, der einer subjektiven Einschätzung zu Grunde liegt. Im normalen Sehngewebe verlaufen die Fasern im longitudinalen Schallbild parallel zum Sehnenverlauf. Durch eine Läsion kommt es zum Auffasern, wodurch die Parallelität verloren geht. Anschließend werden vor allem kurze, quervernetzte Fasern zur schnellen Stabilisierung gebildet. So beschreiben KÜLLMER et al. (1994) nach zwei Monaten eine annähernd isoechogene Sehne jedoch mit größerem Faserverlauf. Bei WATTS et al. (2012) fanden sich auch nach 16 Wochen noch kurze, quervernetzte Fasern im Ultraschallbild.

2.3.2.8 Einteilung der Metacarpalregion für die Sonographie

Eine gängige Einteilung des Röhrlbeines vom Pferd für die Ultraschalluntersuchung kann nach RANTANEN et al. (2011) vorgenommen werden. Dabei wird die distale Gliedmaße in sieben Zonen eingeteilt, die transversal (1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 3C) und longitudinal (1, 2, 3) zu schallen sind. Wird auch die Karpalgelenksregion mit erfasst, schließt sich proximal noch eine weitere Zone 0 an.

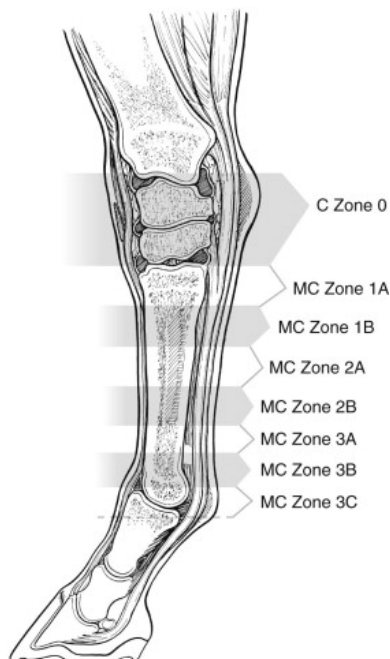


Abb. 1: Einteilung der Gliedmaße des Pferdes in Zonen für die Untersuchung mittels Ultraschall nach Abb. 16-15 in RANTANEN et al. (2011)

Die Lokalisation der Zonen wird dabei immer durch den Abstand zum Os carpale accessorium definiert. So befindet sich die Zone 1A 0,5 bis 4 cm distal davon. Bei palmar aufgesetztem Schallkopf liegt die OBS mittig und stellt sich oval dar. Die TBS ähnelt in ihrem Querschnitt eher einer Dreiecksform. In der Zone 1B, die sich von 4 bis 7 cm distal des Os carpale accessorium erstreckt, verändert sich die Form der OBS hin zu halbmondförmig. In dorsaler Richtung liegt die nun ovale TBS an. Die Zone 2A gleicht in ihrem Bild der Zone 1B und kann nur durch die distale Lage von 7 bis 10 cm an der Gliedmaße differenziert werden. In der darauffolgenden Zone 2B, von 10 bis 14 cm, kreuzt der Ramus communicans als nervale Struktur palmar der OBS. Die Zone 3A erstreckt sich 14 bis 18 cm distal des Os carpale accessorium. Die OBS stellt sich weiterhin als halbmondförmige Struktur dar, wobei der mediale Bereich weiter als der laterale ist. Die dorsal davon liegende TBS erhält auf dieser Höhe ihr Ligamentum accessorium. In der Zone 3B, die sich 18 bis 23 cm vom Os carpale accessorium entfernt befindet, erscheint palmar eine weitere Struktur, die zum Fesseltrageapparat gezählt wird, die Manica flexoria. Sie steht in Verbindung mit den sich aufteilenden Schenkeln der OBS, die weiterhin medial weiter als lateral ist. Die letzte Zone 3C befindet sich auf Höhe der Gleichbeine und stellt somit das Ende des Röhrbeines dar.

(RANTANEN et al. 2011)

2.4 Histologie von Sehnengewebe

2.4.1 Histologischer Aufbau von Sehnengewebe

Sehnengewebe zählt nach histologischer Klassifikation zu den Bindegeweben. Es besteht vorrangig aus straffen Bindegewebsfasern. Eine jede Sehne wird vom Paratendineum umhüllt und setzt sich aus vielen Sekundärbündeln zusammen. Zwischen diesen befindet sich das Peritendineum, in dem die versorgenden Blutgefäße ihren Lauf nehmen. Ein solches Sekundärbündel besteht wiederum aus mehreren Primärbündeln (NOWOTNY et al. 2015). In der OBS des Pferdes beträgt der Querschnitt eines Sekundärbündels zwischen 0,8 und 1,2 mm (PATTERSON-KANE et al. 2009). Ein Primärbündel ist 3 bis 7 µm dick (NOWOTNY et al. 2015) und besteht aus mehreren Fibrillen. Diese sind beim Pferd 20 bis 300 nm dick und ihre Länge reicht vom Millimeter- bis in den Zentimeterbereich (PATTERSON-KANE et al. 2009). Fibrillen sind aus miteinander verdrehten Mikrofibrillen zusammengesetzt, wobei jede dieser Mikrofibrillen aus 5 Kollagenfasern besteht (NOWOTNY et al. 2015). Bei den Kollagenfasern unterscheidet man in der Histologie verschiedene Typen, die sich in ihrem Aufbau und durch ihre mechanische Festigkeit unterscheiden. Sehnengewebe besteht vor allem aus dem sehr festen Typ I Kollagen und nur zu 4 bis 5 % aus Typ III Kollagen (PATTERSON-KANE et al. 2009). Auch die sich ebenfalls im Sekundärbündel befindlichen Tenozyten können, wie von SMITH und WEBBON (1996) beschrieben (SMITH et al. in PATTERSON-KANE et al. 2012), nach ihrer Kernmorphologie in drei Typen unterteilt werden. Typ I beschreibt dabei den maturen Tenozyt, der sich im

Ruhezustand befindet und durch seinen dünnen, langen, spindelförmigen Kern kaum zwischen den Kollagenfasern auffällt. Der Typ II besitzt einen eher zigarrenförmigen Kern, ist im aktiven Syntheseprozess und wird daher auch Tenoblast genannt. Der Typ III ähnelt dem Tenoblasten, ist jedoch von seiner Zellform noch runder. Die Typen II und III sind hauptsächlich in sich umbauendem Gewebe zu finden (PATTERSON-KANE et al. 2012; DOWLING et al. 2000). Zwischen Kollagenfasern und Tenozyten befindet sich eine Matrix aus verschiedenen Protein- und Kohlehydratverbindungen. Adhäsive Proteoglykane und Glykosaminoglykane sind die wasserbindenden Faktoren, während Glykoproteine vorrangig für die Stabilität, Zellinteraktionen und die Sehnenheilung mitverantwortlich sind. Der Anteil dieser Substanzen beträgt im Sekundärbündel 20 % (NOWOTNY et al. 2015).

2.4.2 Histologische Färbemethoden für Sehnengewebe

2.4.2.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)

Die HE-Färbung ist die histologische Standardfärbung, die sich als grobe Übersicht für alle Gewebe eignet. Als Farbstoffe kommen Hämatoxylin und Eosin zum Einsatz. Erstere färbt vor allem Zellkerne blau-violett. Das Zytoplasma wird durch Eosin rot gefärbt. In Studien, die sich mit der Evaluation bildgebender Diagnoseverfahren beschäftigen, wurde von BOSCH et al. (2011), PETROU et al. (2009), SCHRAMME et al. (2010), SHERLOCK et al. (2015), TAVARES et al. (2014) und WATTS et al. (2012) die HE-Färbung als Standardmethode eingesetzt.

2.4.2.2 Masson-Trichom-Färbung (TM)

Bei dieser Färbemethode werden drei Farbstoffe verwendet: Hämatoxylin, Fuchsin und Anilinblau. Dabei erscheinen die Zellkerne schwarz, das Zytoplasma blassrosa, Muskelfasern und Fibrin rot. Kollagenfasern färben sich in ihrer unstrukturierten Form während der Sehnenheilung blau. In der gesunden Sehne färbt sich das organisierte Kollagen 1 nach Zugabe von Anilin nicht blau, sondern bleibt rot (ESTRADA et al. 2014). Daher ist diese Färbemethode sehr gut zur Beurteilung der Sehnenheilung geeignet (MARTINELLO et al. 2015). ESTRADA et al. (2014) und MARTINELLO et al. (2015) verwandten diese Färbung um mittels einer Bildbearbeitungs-Software ein Rot/Blau-Verhältnis zu kalkulieren. SCHRAMME et al. (2010) werteten die angefertigten TM-Schnitte subjektiv nach allgemeinen histologischen Kriterien aus, wobei das Augenmerk auf die Anzeichen für Nekrose, Blutungen, Granulationsgewebe und Fibrose lag.

2.5 Sehnenheilung

Betrachtet man den histologischen Aufbau von Sehnengewebe (siehe Kapitel 2.4.1), so ist nur ein kleiner Anteil davon funktionelles Bindegewebe. Der Großteil besteht aus Kollagenfasern, die für die nötige mechanische Stabilität sorgen. Durch eine Verletzung wird das kompakte Fasergewebe zerstört. Die Wiederherstellung einer voll

funktionstüchtigen Sehne ist nur bei ungestörtem Heilungsverlauf möglich. Beim Pferd kann durch äußere Umstände bedingt meist keine restitutio ad integrum erreicht werden.

Die Sehnenheilung kann prinzipiell in drei Phasen eingeteilt werden. Sie werden als inflammatorische Phase, Proliferationsphase und Remodellingphase bezeichnet (BOSCH et al. 2011; CRASS et al. 1992; HÜGLE et al. 2012; MÖLLER et al. 2000; NOWOTNY et al. 2015; SHARMA et al. 2006; VAN SCHIE et al. 2009). Eine Sehne kann durch Beeinträchtigungen des Heilungsverlaufes auch in mehreren Phasen gleichzeitig sein (CRASS et al. 1992).

2.5.1 Inflammatorische Phase

Die erste Phase der Sehnenheilung ist durch das Vorhandensein einer Entzündung geprägt und wird daher als inflammatorische Phase bezeichnet. Binnen der ersten drei Tage wird durch Monozyten und Makrophagen begonnen das zerstörte Gewebe abzubauen. Außerdem setzen sie Entzündungsmediatoren frei, die die Gerinnungskaskade und das Komplementsystem aktivieren. Diese fördern die Angiogenese und Migration von weiteren Entzündungszellen über die Blutbahn. Dabei wandern neben weiteren Monozyten und Makrophagen auch neutrophile Granulozyten ins Entzündungsgebiet ein. Desweiteren werden Fibroblasten aktiviert, die durch die Produktion von Fibrinfasern zu einer ersten Stabilisierung des geschädigten Gewebes führen. Der Übergang in die Proliferationsphase ist fließend und von vielen äußeren Gegebenheiten abhängig. Die Zeitdauer dieser ersten Phase ist daher nicht genau zu bestimmen. BOSCH et al. (2011) zählen die ersten zehn Tage nach Läsion zur inflammatorischen Phase, räumen aber ein, dass die Proliferation bereits am fünften Tag nach Läsion beginnt. NOWOTNY et al. (2015) hingegen definieren die inflammatorische Phase klar mit fünf Tagen.

2.5.2 Proliferationsphase

Die anschließende Proliferationsphase schließt einen Zeitraum von fünf Wochen nach dem Auftreten der Läsion ein. In dieser Zeit findet die Synthese von neuen Kollagenfasern statt. Zunächst wird vor allem Kollagen vom Typ III produziert, welches ein kurzes, quervernetztes Geflecht bildet. Durch die erhöhte Produktion von extrazellulärer Matrix und davon vorrangig Glykosaminoglykanen ist die Wasserbindungskapazität des Gewebes deutlich erhöht. Es entsteht ein Sehnennarbengewebe, welche zell- und matrixreich ist.

2.5.3 Remodellingphase

Die letzte Phase des Remodelling wird von NOWOTNY et al. (2015) noch einmal in zwei Phasen unterteilt. Erstere nennen sie die Konsolidierungsphase, welche bis zur zehnten Woche nach der Entstehung der Läsion dauert. In dieser verringert sich die Produktion von Kollagen Typ III und Glykosaminoglykanen zu Gunsten der Synthese von Kollagen

Typ I. Dieser Kollagentyp ist parallelfasrig entlang der Zugrichtung ausgerichtet. Darauf folgt die Reifungsphase, in der das Gewebe eine Festigkeit ausbildet. Die Entstehung des narbenähnlichen Gewebes kann bis zu einem Jahr (NOWOTNY et al. 2015) und länger (BOSCH et al 2011) dauern.

2.6 Experimentelle Sehnenläsionen an Tiermodellen

Natürlich entstandene Sehnenläsionen sind vor allem bei Sportpferden ein häufiges Problem. Je nach Lokalisation und Schweregrad ergibt sich jedoch ein unterschiedlicher Heilungsverlauf (KASASHIMA et al. 2002; KING et al. 2013). Um für die Forschung gut vergleichbare Fälle zu kreieren wurden daher Modelle entwickelt, an Hand derer Sehnenläsionen künstlich induziert werden können. Dabei besitzt jede dieser Methoden ihre Vor- und Nachteile und sie können niemals eine natürlich entstandene Läsion identisch nachstellen (WATTS et al. 2012). Durch das Erschaffen solch induzierter Läsionen, die sich bei gleicher Technik in Größe und Ausmaß ähneln, ist es möglich verschiedene Diagnostik- und Therapieverfahren wissenschaftlich zu vergleichen.

2.6.1 Chirurgisch induzierte Sehnenläsionen

Bei chirurgisch induzierten Sehnenläsionen handelt es sich um Verfahren, bei denen Teile des Sehnengewebes entfernt oder mechanisch zerstört werden. Der Umfang des Traumas wird in verschiedenen Studien unterschiedlich gehandhabt. PETROU et al. (2009) entfernten chirurgisch 50 % und TAVARES et al. (2014) das gesamte Zentrum der Achillessehne beim Kaninchen, was sich auf ein Ausmaß von 3 mm Breite und 10 mm Länge erstreckte. SCHRAMME et al. (2010) verwandten einen Synovialesektor, mit dem sie über eine Strecke von 8 cm eine 3,5 mm breite Läsion in der OBS des Pferdes erzeugten. Ein vergleichbares Vorgehen kam bei BOSCH et al. (2011), ESTRADA et al. (2014) und GEBUREK et al. (2016) zum Einsatz. Der Vorteil solch einer chirurgischen Läsion ist, dass diese auf ihre Lokalisation beschränkt bleibt und nicht dazu neigt sich auszudehnen. Allerdings führt der vergleichsweise große Zugang von außen zu Reaktionen am Peritendineum. Dort werden durch Fibrose und Adhäsion extrinsische Heilungsmechanismen angeregt, die bei natürlichen Sehnenschäden nicht auftreten (SCHRAMME et al. 2010). Für solch einen großen Eingriff ist außerdem eine Allgemeinanästhesie des Tieres nötig, die mit erheblichen Risiken intra und post operationem verbunden ist.

2.6.2 Sehnenläsionen mittels Kollagenase-Applikation

Zur Erzeugung einer Sehnenläsion bedient man sich bei diesem Verfahren dem Mechanismus der enzymatischen Aufspaltung. Da die OBS des Pferdes zu circa 75 % (PATTERSON-KANE et al. 2009) aus Kollagenfasern besteht, führt ein Abbau dieser zu einem erheblichen Defekt. KARLIN et al. (2011) verwandten für ihre Studie an der OBS des Pferdes die Methode der reinen Kollagenase-Applikation. Sie brachten mittels einer 25 Gauge dicken Nadel 2000 Units einer sterilisierten bakteriellen Kollagenase unter

Ultraschallkontrolle ins Zentrum der Sehne ein. Daraufhin fand ein enzymatischer Abbau des Gewebes statt. Der Vorteil dieser Methode ist eine einfache Durchführung, die am stehenden sedierten Pferd durchgeführt werden kann. Die Läsion selbst ist allerdings nach palmar an der Einstichseite vergleichsweise undeutlicher begrenzt (KARLIN et al. 2011), da man beim Rückführen der Kanüle noch Reste der applizierten Kollagenase ins Gewebe entlässt. Eine vergleichbare Methode wurde von FERRARI et al. (2006) in vitro an der OBS des Pferdes eingesetzt.

2.6.3 Kombination aus chirurgischem Verfahren und Kollagenase-Applikation

Um die Nachteile beider Methoden zu minimieren, werden auch Verfahren eingesetzt, die eine Kombination aus chirurgischer Läsion und Gewebeabbau durch Kollagenase beinhalten. Hierbei wird der mechanische Aspekt durch eine Applikationsnadel herbeigeführt, die durch ihren großen Durchmesser das Sehnengewebe beim Durchstechen zerstört. WATTS et al. (2012) benutzten zu diesem Zweck eine 16 Gauge dicke und 8,89 cm lange Epiduralkanüle. Sie applizierten auf einer Länge von 2 cm eine Lösung von 1 ml Volumen, welche 1300 Units Kollagenase, bovines Thrombin und allogenese Fibrinogen enthielt. Auf den folgenden 3,5 cm wurden außerdem 0,2 ml der Lösung ohne Kollagenase injiziert. Diese Methode wird als Kollagenase-Gel-Methode beschrieben. Im Vergleich zur reinen Kollagenase-Applikation waren die Läsionen einheitlicher und räumlich begrenzter (WATTS et al. 2012). Eine vergleichbare Methode wurde in der Studie zur vorliegenden Arbeit angewandt wie von BURK et al. (2016) und AHRBERG et al. (2018) bereits publiziert.

3 TIERE, METARIAL UND METHODEN

3.1 Untersuchte Tiere

Von März 2014 bis März 2015 wurde an der Universität Leipzig unter Zusammenarbeit der Chirurgischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät und dem Translationszentrum für Regenerative Medizin eine Studie zu Sehnenerkrankungen am Pferd durchgeführt. Zu den Probanden zählten sechs Großpferde, die zwischen drei und zehn Jahren alt waren. Davon waren drei Pferde weiblich und drei Pferde männlich. In der allgemeinen klinischen Untersuchung waren alle Tiere ohne besonderen Befund. Vorab durchgeführte Ultraschall- und MRT-Untersuchungen aller vier Gliedmaßen gaben keine Hinweise auf vergangene oder akut bestehende Schäden in der OBS. Für den Zeitraum des Versuches wurden die Tiere in Einzelboxen der Chirurgischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät untergebracht. Alle medizinischen Untersuchungen wurden von geschultem Fachpersonal durchgeführt. Die chirurgischen Eingriffe erfolgten immer durch denselben erfahrenen Chirurgen. Nach einem Versuchszeitraum von 24 Wochen wurden die Pferde fachgerecht euthanasiert. Die durchgeführte Studie wurde von der Landesdirektion Leipzig (TVV 34/13) genehmigt.

Sämtliche Tätigkeiten am Pferd einschließlich MRT- und ultrasonographischer Untersuchungen sowie die histologischen Untersuchungen wurden durch Mitarbeiter des Translationszentrums für Regenerative Medizin, der Chirurgischen Tierklinik und der Klinik für Orthopädie, Unfallchirurgie und Plastische Chirurgie sowie das Institut für Veterinär-Pathologie durchgeführt (siehe Kapitel 3.2 – 3.5). Das dabei gewonnene Bildmaterial war Gegenstand der Untersuchungen der vorliegenden Dissertation.

3.2 Induzierte Sehnenläsionen und Weiterbehandlung

3.2.1 Chirurgischer Eingriff

Bei jedem Tier wurde in allen vier Gliedmaßen eine Läsion in der OBS im zentralen Drittel des jeweiligen Röhrbeines gesetzt. Dazu wurden die Tiere unter Allgemeinanästhesie in Seitenlage gebracht und die benötigten Areale geschoren und chirurgisch desinfiziert. Die Läsionen wurden mittels einer Kombination aus chirurgischem Verfahren und Applikation von Kollagenase erzeugt. Parallel zur Sehne wurde ein 2 cm langer Hautschnitt getätigt. Durch diesen wurde eine 11 Gauge dicke Knochenmarkpunktionsnadel (Argon Medical Devices, Athens, USA) eingebracht und innerhalb der OBS 2 cm nach proximal vorgeschoben. An dieser Stelle beginnend wurde unter langsamem Zurückziehen der Nadel 0,4 ml einer Kollagenase-I-Lösung injiziert. Die Kollagenase-I-Lösung wurde von der Firma Life Technologies GmbH aus Darmstadt bezogen und lag in einer Konzentration von 4,8 mg/ml vor. Anschließend wurde ein Verschluss von Unterhaut und Haut vorgenommen und ein Schutzverband angelegt.

3.2.2 Versorgung prä und post operationem

Alle Tiere wurden mit dem nichtsteroidalen Antiphlogistikum Flunixin-Meglumin (Flunidol®, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany) versorgt. Sie bekamen vor und zehn Stunden nach dem Eingriff je 1,1 mg/kg Flunixin intra venös (i.v.), weitere vier Tage zweimal täglich 0,55 mg/kg per os (p.o.) und noch zwei weitere Tage 0,55 mg/kg p.o. einmal täglich. Bis zehn Tage post operationem wurden die Pferde dreimal täglich auf Schmerzhaftigkeit mittels eines Scoring-Systems überprüft. Traten nach Absetzen des Flunidol® noch Schmerzen auf, wurden einmalig 0,55 mg/kg p.o. verabreicht. Alle Pferde hatten zunächst strikte Boxenruhe. Nach 14 Tagen wurden die Nähte entfernt und die Beine ohne Schutzverband belassen.

3.2.3 Applikation von Serum und mesenchymalen Stromazellen

Der grundlegende Gedanke des Tierversuches war die Erweiterung der Kenntnisse auf dem Gebiet der regenerativen Medizin. Daher sah der Versuchsaufbau vor, drei Wochen nach dem Setzen der Läsionen bei jedem Pferd jeweils einer zufällig ausgewählte Vorder- und Hintergliedmaße multipotente mesenchymale Stromazellen (MSC) in 1 ml autologem Serum zu injizieren. Das jeweils andere Bein diente als Kontrollbein. Um vergleichbare Ausgangssituationen in den Sehnen zu schaffen, wurde deshalb den Kontrollbeinen zum gleichen Zeitpunkt 1 ml reines autologes Serum injiziert. Die Applikation fand am stehenden sedierten Pferd statt. Zusätzlich wurden alle Gliedmaßen mit einer lokalen Anästhesie mittels Lidocain 2 % (bela-pharm GmbH & Co. KG, Vechta, Germany) versorgt. Es wurde eine 20 Gauge dicke Kanüle verwendet, die unter Ultraschallkontrolle mit einem 10 MHz Linearschallkopf an einem LOGIQ 5 Expert System (GE Healthcare, München, Germany) im Zentrum der Läsion platziert wurde. Dem durchführenden Chirurgen war dabei unbekannt, wann er MSCs und wann er reines Serum applizierte. Nach dem Eingriff wurden die Gliedmaßen für zwei Tage unter Verband gehalten. Außerdem bekamen die Pferde am Tag der Injektion 1,1 mg/kg Flunidol® i.v. und am darauffolgenden Tag 0,55 mg/kg p.o.

3.2.4 Behandlungsprogramm nach Serum- und MSC-Injektion

Alle Tiere hatten bis fünf Wochen nach dem Setzen der Läsion strikte Boxenruhe. Anschließend wurde ein Bewegungsprogramm gestartet, das von SMITH et al. (2012) bereits veröffentlicht wurde. Demnach wurde ab Woche 3 nach Serum- und MSC-Applikation eine kontrollierte Bewegung an der Hand begonnen. Mit 10 Minuten Schritt beginnend wurde die Dauer alle zwei Wochen um fünf Minuten gesteigert, sodass man in Woche 15 und 16 insgesamt 40 Minuten erreichte. In den Wochen 17 bis 20 kamen zu den 40 Minuten Schritt noch 5 Minuten Trab hinzu. Die letzten 4 Wochen bis zum Ende der Studie wurden die Pferde täglich 35 Minuten im Schritt und 10 Minuten im Trab bewegt. Drei Wochen nach Serum- und MSC-Applikation wurden unter Allgemeinanästhesie Sehnenstücke aus den Hintergliedmaßen für die Histologie entnommen. In den darauffolgenden Tagen wurde das Bewegungsprogramm vorübergehend pausiert.

3.3 Magnetresonanztomographie

3.3.1 Kernspintomograph

Die MRT wurde in der Chirurgischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig durchgeführt. Es wurde ein 0,27 Tesla Niedrigfeld Magnetresonanztomograph der Firma Hallmarq verwendet, der speziell für die Bildgebung an der distalen Gliedmaße des Pferdes entwickelt wurde (Hallmarq EQ 2, Spule: Fetlock-Coil, Hallmarq Veterinary Imaging, Guildford, Surrey, UK).

3.3.2 Durchführung

3.3.2.1 Sedation

Für die MRT wurden alle Pferde mit 0,04 mg/kg Romifidinhydrochlorid i.v. (Sedivet ®, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim am Rhein, Germany) und 0,02 mg/kg Butorphanol-Tartrat i.v. (Alvegesic ®, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany) sediert. Die Aufrechterhaltung wurde nach Bedarf mit 20 mg Detomidinhydrochlorid (Cepesedan ®, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany) und 10 mg Butorphanol-Tartrat i.v. (Alvegesic ®, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Germany) in 500 ml Natriumchlorid-Lösung i.v. als Dauertropfinfusion gewährleistet. So konnten alle vier Gliedmaßen nacheinander gescannt werden.

3.3.2.2 Untersuchungszeitpunkte

Es wurden bei allen Pferden zu 10 Zeitpunkten MRT-Aufnahmen angefertigt. Da drei Wochen nach der MSC- beziehungsweise Serum-Applikation aus den Hintergliedmaßen jedes Pferdes eine Sehnenbiopsie für die Histologie entnommen wurde, liegen für diese Beine nur Aufnahmen der ersten 5 Zeitpunkte vor. Die 10 Zeitpunkte verteilen sich daher wie folgt:

	Zeitpunkt	Vordergliedmaße	Hintergliedmaße
1	Vor MSC- bzw. Serum-Injektion	X	X
2	Nach MSC- bzw. Serum-Injektion	X	X
3	1 Woche post injectionem	X	X
4	2 Wochen post injectionem	X	X
5	3 Wochen post injectionem	X	X
6	4 Wochen post injectionem	X	
7	6 Wochen post injectionem	X	
8	8 Wochen post injectionem	X	
9	12 Wochen post injectionem	X	
10	24 Wochen post injectionem	X	

Tab. 1: Untersuchungszeitpunkte der MRT

3.3.2.3 Sequenzen

Zu jedem Zeitpunkt wurden vier Sequenzen angefertigt, die in ihren Einstellungen konstant blieben. Dabei handelte es sich um T_1 - und T_2^* -gewichtete GRE-Sequenzen, T_2 -gewichtete und STIR Fast-Spin-Echo (FSE) Sequenzen. Es wurde jeweils mit einer Schichtdicke von 5 mm und einem Abstand zwischen den Bildern von 1 mm gearbeitet. Die technischen Parameter waren dabei wie folgt eingestellt:

Sequenz	TR in ms	TE in ms	Flip-Winkel	Field of view in mm	Matrix
T_1 w GRE	52	8	50°	171 x 171	256 x 256
T_2^* w GRE	68	13	25°	171 x 171	256 x 256
T_2 w FSE	1544	88	90°	171 x 171	256 x 256
STIR	2336	22	90°	171 x 171	256 x 256

Tab. 2: Technische Parameter der MRT-Sequenzen

3.3.3 MRT-Bildmaterial

Für diese Arbeit wurden alle MRT-Aufnahmen der Vordergliedmaßen, die Injektionen mit reinem autologen Serum erhielten, verwendet. So konnten sechs Gliedmaßen in vier verschiedenen Sequenzen zu 10 Zeitpunkten während einer Dauer von 24 Wochen verfolgt werden. Insgesamt entstanden 4970 MRT-Bilder, die in die Auswertung einfließen.

3.4 Ultraschall

3.4.1 Ultraschallgerät

Die Sonographie wurde in der Chirurgischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig durchgeführt. Dazu wurde ein 10 MHz Linearschallkopf an einem LOGIQ 5 Expert System (GE Healthcare, München, Germany) verwendet.

3.4.2 Durchführung

3.4.2.1 Untersuchungszeitpunkte

Die Untersuchung mittels Ultraschall wurde im Verlauf der Studie zu 9 Zeitpunkten durchgeführt. Um die spätere statistische Auswertung zu vereinfachen, wurden die Aufnahmen jedoch entsprechend denen der MRT mit 1 bis 10 bezeichnet. Für die Sonographie entfällt dabei der Zeitpunkt 2, der direkt nach der MSC- beziehungsweise Serum-Applikation liegt. Dieser Zeitpunkt wurde für den Teil der Studie benötigt, der sich mit dem Tracking der applizierten MSCs beschäftigte. Eine MRT zur Detektion der MSCs war daher direkt nach der Applikation sinnvoll, wohingegen die Ultraschalluntersuchung keine relevanten Ergebnisse geliefert hätte.

3.4.2.2 Untersuchungstechnik

Die untersuchten Gliedmaßen wurden longitudinal und transversal gemäß der Einteilung in Zonen nach RANTANEN et al. (2011) untersucht (siehe Kapitel 2.3.2.8). Dabei wurde pro Zone ein Bild angefertigt, das zur Auswertung diente. Die Zone 3C wurde in den Verlaufsuntersuchungen nicht mehr geschallt, da sich die induzierten Läsionen nicht bis in diesen distalen Bereich erstreckten.

3.4.3 Ultraschall-Bildmaterial

Für diese Arbeit wurden alle Ultraschallbilder der Vordergliedmaßen, die Injektionen mit reinem autologen Serum erhielten, verwendet. So konnten sechs Gliedmaßen zu 9 Zeitpunkten während einer Dauer von 24 Wochen sonographisch verfolgt werden. Insgesamt entstanden 486 Ultraschall-Bilder, die in die Auswertung einfließen.

3.5 Histologie

3.5.1 Entnahme der Gewebeproben

24 Wochen nach der Serum- und MSC-Applikation wurden alle Tiere fachgerecht euthanasiert. Die OBS beider Vordergliedmaßen wurden auf der Länge des gesamten Röhrbeines entnommen und transversal in 2 cm dicke Stücke geschnitten.

Aus den Hintergliedmaßen wurden bereits in Woche 3 nach der Serum- und MSC-Applikation Sehnenteile für die Histologie unter Allgemeinanästhesie entnommen. Mit diesen Gewebeproben wurde identisch verfahren, jedoch sind in dieser Arbeit nur die Daten der Vordergliedmaßen in die Auswertung eingeflossen.

3.5.2 Histologische Einbettung

Um Gewebe histologisch betrachten zu können, muss es zunächst durch zahlreiche Arbeitsschritte vorbereitet werden. Direkt nach der Entnahme wurde das gewonnene Sehnenstück in 4%igem Paraformaldehyd fixiert. Anschließend wurde in einer aufsteigenden Alkoholreihe dem Gewebe das Wasser entzogen, um es danach in Paraffin (Vogel Histo-Comp®, Vogel GmbH & Co KG, Gießen, Germany) einzubetten. Aus den fertigen Paraffinblöcken wurden am Mikrotom Gewebeschnitte aus den zentralen Bereichen jedes Sehnenstückes angefertigt und auf Objektträger verbracht, um sie anschließend der jeweiligen Färbemethode zu unterziehen.

3.5.3 HE-Färbung

3.5.3.1 Färbemethode

Die HE-Färbung wurde als Dienstleistung des Pathologischen Institutes der Veterinärmedizinischen Fakultät angefertigt. Dabei wurde nach einem Standardprotokoll vorgegangen, welches zunächst die Färbung mittels Hämatoxylin und

anschließender Wässerung vorsieht. Danach wurde der Farbstoff Eosin verwandt. Das so gefärbte Präparat wurde nacheinander in destilliertes Wasser, 96%igen Ethanol und anschließend Xylol zur Eindeckung verbracht.

3.5.3.2 Auswertung der HE-Schnitte

Die Auswertung der HE-Schnitte wurde von Giacomo Rossi, Universität Camerino, Italien durchgeführt. Er verwandte ein von seiner Arbeitsgruppe entwickeltes Scoring (CROVACE et al. 2010). Die dabei einfließenden Parameter waren die Anzahl polymorphkerniger Leukozyten, Makrophagen und Lymphozyten, das Auftreten von Anzeichen für Perivaskulitis, Nekrose, Ödem, Kalzifizierung und Fibrose, sowie die Organisation der Kollagenfasern. Für jedes Pferdebein wurde der Mittelwert der ermittelten Scores gebildet.

3.5.4 Masson-Trichrom-Färbung

3.5.4.1 Färbemethode

Die Schnitte wurden zuerst für 60 Minuten in Bouins-Lösung (Sigma: HT101128-4L, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) verbracht. Anschließend wurden sie 10 Minuten unter fließendem Leitungswasser gewässert, um danach für 10 Minuten in Weigerts-Eisen-Hämatoxylin (Sigma: HT1079-1SET, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) zu verbleiben. Nach erneuter Waschung für 10 Minuten unter fließendem Leitungswasser und anschließend zusätzlich in 1%iger Essigsäure wurden die Schnitte für 30 Minuten dem zweiten Farbstoff Ponceau-Fuchsin (0,75 g Ponceau de Xylidine, Sigma: P2395-25G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA; und 0,25 g Acid Fuchsin Fluka 84600, Fluka Chemie GmbH, Buchs, Switzerland) zugeführt. Danach wurden die Schnitte nacheinander wiederum in 1%iger Essigsäure, für 2 Minuten in 2%ige Wolframatophosphorsäure (Sigma: P4006-25G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) und wieder in 1%ige Essigsäure getaucht. Schließlich folgte über 5 Minuten der letzte Farbstoff Fast-Green FCF (Sigma: F7252-5G, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), bevor nach erneuter Inkubation in 1%iger Essigsäure 96%iges Ethanol und Xylol vor der Eindeckung eingesetzt wurden.

3.5.4.2 Auswertung der Masson-Trichrom-Schnitte

Die Auswertung der Masson-Trichrom-Schnitte erfolgte automatisiert mittels eines wissenschaftlichen Algebra-Systems (Mathematica, Wolfram Research, Inc., Version 10.3.0.0, Champaign, USA). Vom Programm wurden dabei die roten und blauen Farbkanäle aus der jeweiligen Aufnahme extrahiert und segmentiert. Für jeden Schnitt wurde der prozentuale Anteil der blauen Farbpunkte bestimmt. Die Werte wurden anschließend zu einem Mittelwert pro Pferdebein zusammengefasst.

3.6 Auswertung des Bildmaterials

3.6.1 Auswertung der MRT- und Ultraschallbilder

Für die Auswertung der MRT- und Ultraschallbilder wurden zwei verschiedene Softwareprogramme (Synedra und Mathematica) verwendet und verglichen. Alle Gliedmaßen wurden zu jedem Untersuchungszeitpunkt im gesamten Bereich des Röhrrbeins gescannt. Um die verschiedenen Messmethoden und ihre Aussagekraft für die Diagnose von Sehnenschäden zu evaluieren wurde für jede Gliedmaße und Sequenz ein kleinerer Bereich bestimmt, innerhalb dessen zu jedem Zeitpunkt auswertbare Bilder vorlagen. Dieser befindet sich immer im mittleren Drittel des Läsionsbereiches und erstreckt sich je nach Tier und Sequenz über eine Länge von 23 bis 83 mm. Der gleiche Zahlenwert steht dabei für die gleiche Ebene im Bezug auf anatomische Fixpunkte, unabhängig davon um welches Bein, welche Sequenz oder welchen Zeitpunkt es sich handelt. Die verwertbaren Daten erstreckten sich über folgende Bildebenen:

Sequenz	Proband 1	Proband 2	Proband 3	Proband 4	Proband 5	Proband 6
T₁	9 – 17	15 – 25	9 – 18	15 – 22	13 – 25	12 – 25
T₂	11 – 15	19 – 24	12 – 16	17 – 21	17 – 24	15 – 25
T₂*	10 – 17	14 – 22	11 – 17	16 – 23	14 – 25	11 – 25
STIR	12 – 16	x	13 – 16	x	x	17 – 23

Tab. 3: Bildebenenbereiche pro Proband und MRT-Sequenz

Für jedes Ultraschall- und MRT-Bild wurde die CSA der Sehne und Läsion bestimmt. Anhand der MRT-Bilder wurden außerdem die SI der Läsion bestimmt und basierend auf den in den jeweiligen Bildserien ermittelten CSA das Läsionsvolumen berechnet.

	MRT	Ultraschall
SI	X	
CSA	X	X
Läsionsvolumen	X	

Tab. 4: Parameter, die in MRT- beziehungsweise Ultraschall-Bildern bestimmt wurden

Alle manuellen Messungen wurden verblindet und mit dreimaliger Wiederholung durchgeführt.

3.6.1.1 Messung der CSA

3.6.1.1.1 Synedra-Messung

Das Programm Synedra View Personal 16 (Version 16.0.0.2 [x64 Edition]; Synedra AIM 16 Hermes, Synedra information technologies GmbH, Innsbruck, Austria) ist ein Bildbetrachtungsprogramm, das für die Medizin entwickelt wurde, um DICOM-Files aus Röntgen, Ultraschall, MRT und Computertomographie auszuwerten. In allen MRT- und Ultraschallbildern wurden manuell die äußeren Begrenzungen von OBS und Läsion als

ROI eingezeichnet. Synedra ermittelt automatisch den Flächeninhalt in mm^2 , welcher die CSA für Sehne und Läsion angibt.

3.6.1.1.2 Mathematica-Messung

Das Programm Mathematica (Wolfram Research, Inc., Mathematica, Version 10.3.0.0, Champaign, USA) ist ein wissenschaftliches Algebra-System, welches in der Technik und Naturwissenschaft weiten Einsatz findet. Es ermittelt seine Daten durch die Auswertung von Bildpixeln. Vorbereitend wurde in jedes MRT-Bild mittels eines Bildbearbeitungsprogrammes (GIMP 2.8, GNU Image Manipulation Program, GIMP-Team, Verden, Germany) die OBS als ROI manuell eingezeichnet. In Mathematica wurde anschließend jedes Bild im Bezug zum Hintergrundsignal einer Segmentierung und Korrektur unterzogen. Danach wurden alle hellen Bildbereiche lokal adaptiv mit einer Filterweite von 30 Bildpixeln segmentiert. In der dann aufgelegten ROI, die der Fläche der OBS entspricht, bestimmt Mathematica den Läsionsbereich mittels einer binären Maske und ermittelt so die CSA der Läsion. Auf Grund der technischen Arbeitsweise des Programmes war eine Auswertung der Sonographie-Bilder nicht aussagekräftig und wurde daher in dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Die Übermittlung der Daten ins Mathematica zur Auswertung wurde von Karsten Winter (Mitarbeiter des Instituts für Anatomie, Medizinische Fakultät, Universität Leipzig) übernommen.

3.6.1.1.3 Verwendung der ermittelten CSA-Werte

Die mittels Synedra und Mathematica ermittelten CSA-Werte wurden einerseits für die Berechnung des Läsionsvolumens (siehe Kapitel 3.6.1.2) verwendet. Andererseits wurde die Anwendung für die Verlaufskontrollen im Zuge der Sehnenheilung überprüft. Dazu wurde auf drei verschiedene Arten ein CSA-Wert pro Zeitpunkt ermittelt. Zum einen wurde aus allen ermittelten CSA-Werten des Läsionsbereiches der Mittelwert berechnet. Zum anderen wurden auf zwei Weisen Maximalwerte der CSA ermittelt. Der im Weiteren als MAX-CSA bezeichnete Wert beschreibt die höchste CSA zu jedem einzelnen Zeitpunkt. Bei der angepassten CSA wurde zum Zeitpunkt 1 die höchste CSA ermittelt und für alle weiteren Zeitpunkt der Wert der gleichen Bildebene verwendet.

	MW-CSA	MAX-CSA		Angepasste CSA	
Zeitpunkt		Ebene	CSA	Ebene	CSA
1	12,65	12	18,57	12	18,57
2	12,25	14	16,37	12	14,83
3	17,015	12	25,53	12	25,53
4	26,9075	14	35,37	12	34,03
5	23,37375	12	29,27	12	29,27
6	19,55125	13	24,61	12	22,62
7	23,95	13	36,5	12	22,91
8	26,36625	12	31,9	12	31,9
9	23,53625	14	34,27	12	21
10	22,92875	13	37,03	12	24,07

Tab. 5: Beispiel Proband 1, MRT T_2^* -Sequenz, ermittelte CSA-Werte

3.6.1.2 Volumenberechnung

Die Berechnung des Volumens von Sehne und Läsion wurde auf Grundlage der MRT-Bilder durchgeführt, die, wie oben beschrieben (siehe Tab. 3, Kapitel 3.6.1), im mittleren Läsionsbereich liegen. Dieser zentrale Bereich wurde gewählt, um zu allen 10 Zeitpunkten den gleichen Bereich in seiner Volumenausdehnung zu verfolgen. Einzelne Bilder waren allerdings auf Grund von Bildartefakten nicht auswertbar. Ein einzelner fehlender Wert für die Berechnung des Volumens wurde an dieser Stelle durch den Wert aus dem proximal davon liegenden Bild ersetzt. Die Formel für die Volumenberechnung ergibt sich aus den Parametern der Schichtdicke von 5 mm und der Lücke zwischen den Bildern von 1 mm.

$$V = [\sum(nCSA)] * 5 \text{ mm} + (n - 1) * 1 \text{ mm}$$

Dabei ist V das Volumen und n die Anzahl der Bilder. Für die Berechnungen wurden dabei die CSA-Werte der Synedra- und Mathematica-Messungen für die Läsion verwendet.

3.6.1.3 Messung der SI

Die Messung der SI wurde nur an den MRT-Bildern durchgeführt. Hier kamen wie bei der Messung der CSA beide Programme zum Einsatz.

3.6.1.3.1 Synedra-Messung

Im Synedra werden nach manueller Einzeichnung des Sehnen- und Läsionsbereiches für jede Fläche automatisch Messgrößen für die SI der jeweiligen Fläche angegeben. So erhält man einen Durchschnitts- (AVG), Minimal- und Maximalwert und die Standardabweichung (SD). Die SI wurde innerhalb der Läsion auf drei Weisen bestimmt. Zunächst für die gesamte CSA der Läsion, dann für eine größtmögliche Kreis-ROI und eine 1mm^2 -ROI, welche im Zentrum der Läsion platziert wurde.

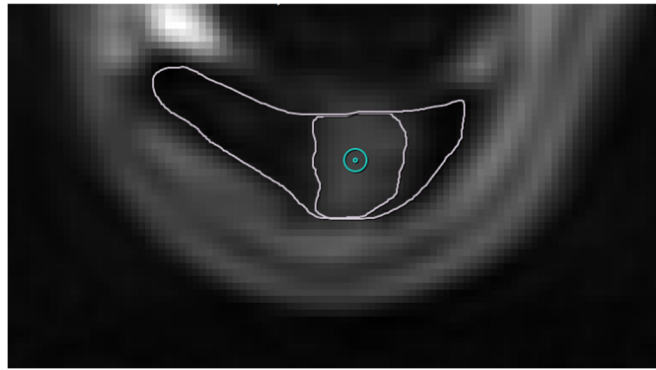


Abb. 2: Darstellung MRT-Aufnahme im Synedra-Programm (weiß umrandet: außen OBS, innen gesamte Läsion; blau umrandet: 1 mm² ROI)

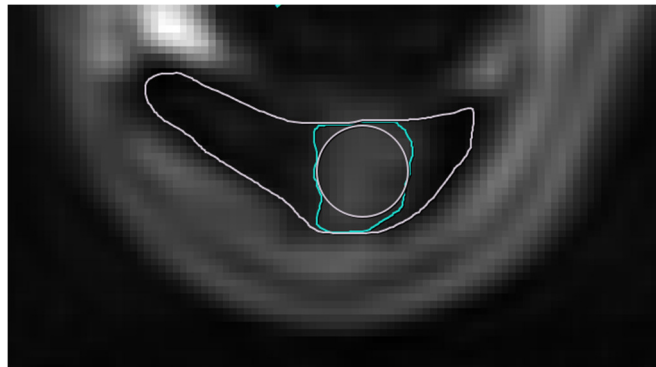


Abb. 3: Darstellung MRT-Aufnahme im Synedra-Programm (weiß umrandet: außen OBS, innen größtmögliche Kreis-ROI; blau umrandet: gesamte Läsion)

Für die späteren Berechnungen wurden gleichzeitig die SI-Werte für die Kortikalis des Röhrenbeins und für den Hintergrund bestimmt, für letzteren als Durchschnittswert aus drei 50mm²-ROI lateral, medial und palmar der OBS.

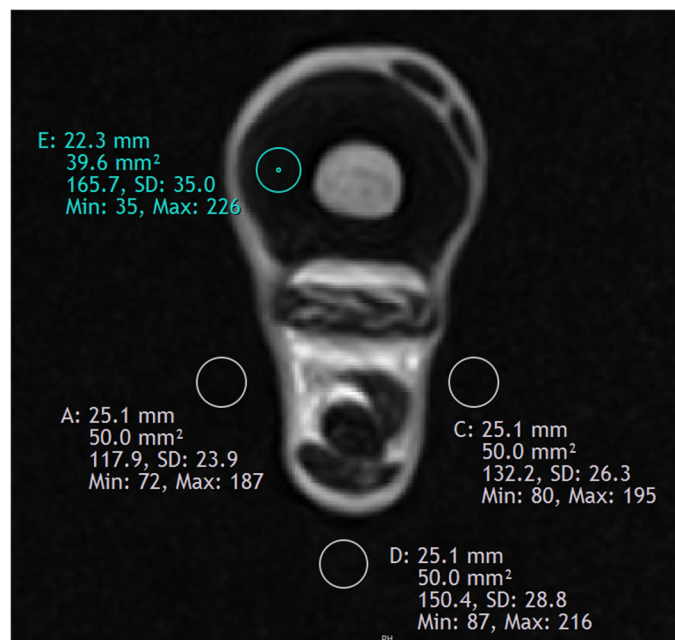


Abb. 4: Darstellung MRT-Aufnahme im Synedra-Programm, Zahlenwerte zu jeder Kreis-ROI: Umfang, Fläche, AVG-SI, SD-SI, Minimale SI, Maximale SI (weiß: drei 50 mm² ROI zur Bestimmung der SI des Hintergrundes; blau: ROI innerhalb der Kortikalis des Röhrenknochens)

3.6.1.3.2 Mathematica-Messung

Die Mathematica-Messung verlief in ihren grundlegenden Schritten wie unter 3.6.1.2.2 beschrieben. Für die Bestimmung der SI-Werte, die ebenfalls als AVG-, Minimal- und Maximal-Werte und als SD erhalten werden, wird vom Programm auf Grundlage der eingezeichneten Sehnenkontur der Läsionsbereich ermittelt und jeder Pixel nach seinem Grauwert beurteilt. Die Ausgabe der Daten erfolgt in Tabellenform und als Grafik.

Parameter	ROI	Läsion	Hintergrund
Gesamtfläche	61.744	61.744	61.744
Fläche	61.744	15.436	46.308
Mittelwert	390.114	801.829	252.876
SD	269.882	172.295	107.62
Median	264.	819.	233.
IQR	309.5	251.25	109.25
_/Q75/Q25		950.	187.
_/Q90/Q10		1019.	130.
Min	48.	485.	48.
Max	1058.	1058.	592.
Range	1010.	573.	544.

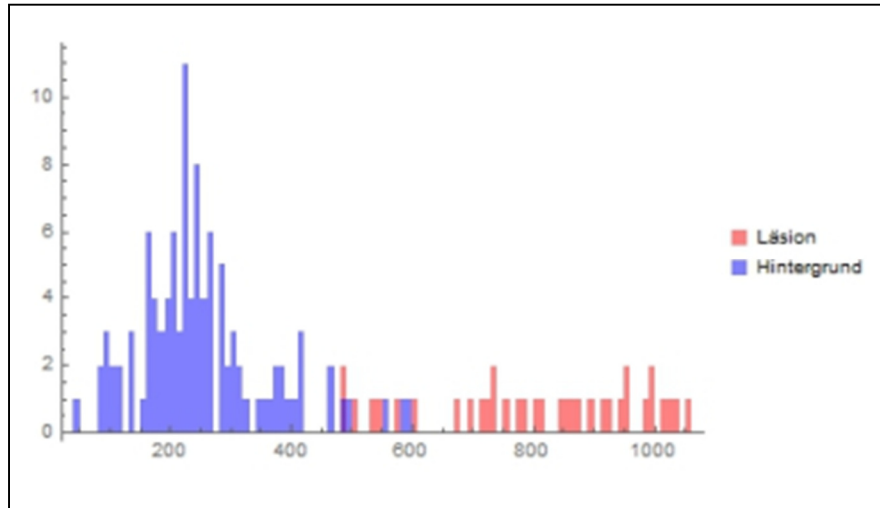


Abb. 5: Ausgabeformate der Daten im Mathematica-Programm [oben: tabellarische Darstellung (ROI = gesamte Sehne, Läsion = Sehnenläsion, Hintergrund = gesamte Sehne abzüglich Läsionsbereich, Fläche = CSA, Mittelwert = AVG-SI, SD = Signaldifferenz, Median = Medianwert SI, IQR = Interquartilsabstand, _/Q75/Q25 = 75% bzw. 25% Quantil, _/Q90/Q10 = 90% bzw. 10% Quantil, Min = Minimale SI, Max = Maximale SI, Range = SI-Differenz von Min und Max); unten: Säulendiagramm (Ordinate: Anzahl der Bildpunkte; Abszisse: SI)]

3.6.1.3.3 Standardisierung der Signalintensitäten

Um die ermittelten SI einer Sehnenläsion zu standardisieren (KARLIN et al. 2011; KRUGER et al. 2000; MILNER et al. 2012; SCHRAMME et al. 2010), wurden vier Formeln verwendet, die die unterschiedlichen Ansätze beinhalten.

$$\textbf{Formel 1: } SDNR = \frac{SI[Läsion] - SI[OBS]}{SD[Hintergrund]}$$

$$\textbf{Formel 2: } SDNR = \frac{SI[Läsion] - SI[OBS]}{SD[Kortikalis]}$$

$$\textbf{Formel 3: } relative\ SI = \frac{SI[Läsion]}{SI[Hintergrund]}$$

$$\textbf{Formel 4: } relative\ SI = \frac{SI[Läsion]}{SI[Kortikalis]}$$

Anhand dieser Berechnungsformeln wurden die SI der Sehnenläsion innerhalb des Bildes standardisiert. Dabei wurden jeweils zwei Berechnungen durchgeführt, in denen als SI-Werte einerseits die AVG-Werte und andererseits die Maximal-Werte (MAX) verwendet wurden. Dabei wurden ausschließlich die Werte der manuellen Synedra-Messung mit der ROI der gesamten Läsionsfläche verwendet. Zur Evaluierung der Formeln wurde der statistische Vergleich mit den Ergebnissen der Histologie als Goldstandard gewählt.

Die Histologie des Sehnengewebes wurde für die Vordergliedmaßen 24 Wochen nach der Serumapplikation (Zeitpunkt 10) durchgeführt. Daher wurden auch nur MRT-Bilder der letzten Untersuchung verwendet. Zudem flossen nur die Aufnahmen der T₁-Sequenz ein, da in unserer Studie in dieser Sequenz die wenigsten Bildartefakte auftraten, wodurch die repräsentativsten Werte zu erwarten waren. Innerhalb dieser T₁-Bildbereiche wurde aus den pro Bild ermittelten SI der Mittelwert (MW) gebildet. Diese Werte wurden als AVG und MAX in die vier Formeln eingesetzt. Dann wurde evaluiert, welche dieser Berechnungen am besten mit dem histologischen Bild korreliert. Dazu wurden alle vier Formeln in jeweils zweifacher Ausführung, als AVG und MAX bezeichnet, mit den Ergebnissen der HE- und Masson-Trichrom-Färbung statistisch verglichen.

3.7 Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit Hilfe der Software SPSS Statistics 22 (IBM Deutschland GmbH, Ehningen) statistisch ausgewertet. Für den Vergleich der unterschiedlichen Messmethoden wurden die Daten auf mögliche Korrelationen nach Pearson überprüft. Dabei wurden für jeden Test der Korrelationskoeffizient r und der p -Wert ermittelt. Dabei galt: $p \leq 0,05$ als signifikant; $r = 0$ kennzeichnet das Fehlen eines linearen Zusammenhanges; $r = 1$ kennzeichnet den idealen linearen Zusammenhang; $r = -1$

kennzeichnet den idealen negativen linearen Zusammenhang. Graphisch wurden die Zusammenhänge in Streudiagrammen dargestellt. Außerdem wurde der Wilcoxon-Signed-Rank-Test für verbundene Stichproben durchgeführt, um mögliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Auswertungsmethoden zu identifizieren. Auch hier galt $p \leq 0,05$ als signifikant. Für die Darstellung der Messwerte in ihrem Verlauf während des 24-wöchigen Versuchszeitraumes wurden Boxplot-Grafiken verwendet. Dabei erstreckt sich die Box vom 25%-Quantil bis zum 75%-Quantil, innerhalb derer der Median durch einen Strich gekennzeichnet ist. Der Whisker wird oberhalb begrenzt durch das 75%-Quantil addiert mit dem anderthalbfachen Interquantilabstand und unterhalb durch das 25%-Quantil subtrahiert mit dem anderthalbfachen Interquantilabstand. Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.

Dabei wurden auf Grundlage der eingangs formulierten Fragestellungen folgende Datenanalysen durchgeführt:

- Korrelation der mittels der Formeln 1-4 standardisierten SI untereinander und mit den Ergebnissen der Histologie als Goldstandard, auf Basis der mit Synedra ermittelten, gemittelten AVG oder MAX SI-Werte (ROI: gesamte Läsion) aus dem gesamten untersuchten Läsionsbereich zum Zeitpunkt 10 in der T₁-Sequenz (n = 6)
- Korrelation und Vergleich der SI-Werte der unterschiedlich großen Kreis-ROI mit den SI-Werten der gesamten Läsion, auf Basis der mit Synedra ermittelten, gemittelten AVG SI-Werte aus dem gesamten untersuchten Läsionsbereich, standardisiert mittels Formel 4, an allen Untersuchungszeitpunkten und für alle MRT-Sequenzen (T₁: n = 60; T₂: n = 44; T₂*: n = 60; STIR: n = 18)
- Korrelation und Vergleich der CSA-Werte der maximalen Läsion (MAX-CSA und angepasste CSA) mit der MW-CSA (gemittelte Werte des gesamten untersuchten Läsionsbereiches), auf Basis der mit Synedra ermittelten Werte an allen Untersuchungszeitpunkten und für alle MRT-Sequenzen

Sequenz	MW-CSA &MAX-CSA	MW-CSA &angep. CSA	MAX-CSA &angep. CSA
T ₁	60	60	60
T ₂	57	57	55
T ₂ *	60	60	60
STIR	26	23	42

Tab. 6: Anzahl der Bildpaare, die pro Sequenz für die statistische Auswertung der unterschiedlichen CSA-Bestimmungen zur Verfügung standen

- Korrelation und Vergleich der Messwerte der manuellen (Synedra) vs automatisierten (Mathematica) Messung, auf Basis der SI-Werte (gemittelte AVG-Werte aus gesamtem untersuchten Läsionsbereich; Standardisierung: Formel 4; ROI: gesamte Läsion), der CSA-Werte (gemittelte Werte aus gesamtem untersuchten Läsionsbereich) und des Läsionsvolumens an allen Untersuchungszeitpunkten und für alle MRT-Sequenzen

Sequenz	SI-Werte	CSA-Werte	Läsionsvolumen
T₁	60	60	60
T₂	44	60	41
T₂*	60	60	60
STIR	18	18	18

Tab. 7: Anzahl der Bildpaare, die pro Sequenz für die statistische Auswertung der Korrelation von Synedra und Mathematica zur Verfügung standen

- Korrelation und Vergleich von Messwerten aus Ultraschall- und MRT-Bildern im Hinblick auf Diagnose und Heilungsverlauf, auf Basis der mit Synedra ermittelten MAX-CSA an allen Untersuchungszeitpunkten (ausgenommen Zeitpunkt 2) (T₁: n = 54; T₂: n = 51; T₂*: n = 54; STIR: n = 47)
- Deskriptive Beurteilung und graphische Darstellung des Heilungsverlaufes auf Grundlage der verschiedenen MRT-Sequenzen, auf Basis der mit Synedra ermittelten SI-Mittelwerte, MW-CSA und des Läsionsvolumens

	SI-Mittelwerte				MW-CSA und Läsionsvolumen			
Zeitpunkt	T ₁	T ₂	T ₂ *	STIR	T ₁	T ₂	T ₂ *	STIR
1	6	4	6	5	6	6	6	3
2	6	6	6	5	6	6	6	3
3	6	5	6	6	6	6	6	3
4	6	6	6	5	6	6	6	2
5	6	4	6	3	6	3	6	1
6	6	5	5	3	6	5	6	1
7	6	5	6	2	6	6	6	1
8	6	4	6	2	6	4	6	1
9	6	6	6	4	6	6	6	2
10	6	6	6	4	6	6	6	2

Tab. 8: Anzahl der Werte, die für die Verlaufsbeurteilung der MRT-Sequenzen untereinander zur Verfügung standen

4 ERGEBNISSE

4.1 Standardisierung der SI der Sehnenläsion

Die beste Korrelation ergab sich zwischen den Ergebnissen der Masson-Trichrom-Färbung und der mittels Formel 4 [$relative\ SI = SI(Läsion)/SI(Kortikalis)$] unter Einsatz des AVG-Wertes berechneten SI. Diese Messungen waren mit $p = 0,019$ statistisch signifikant.

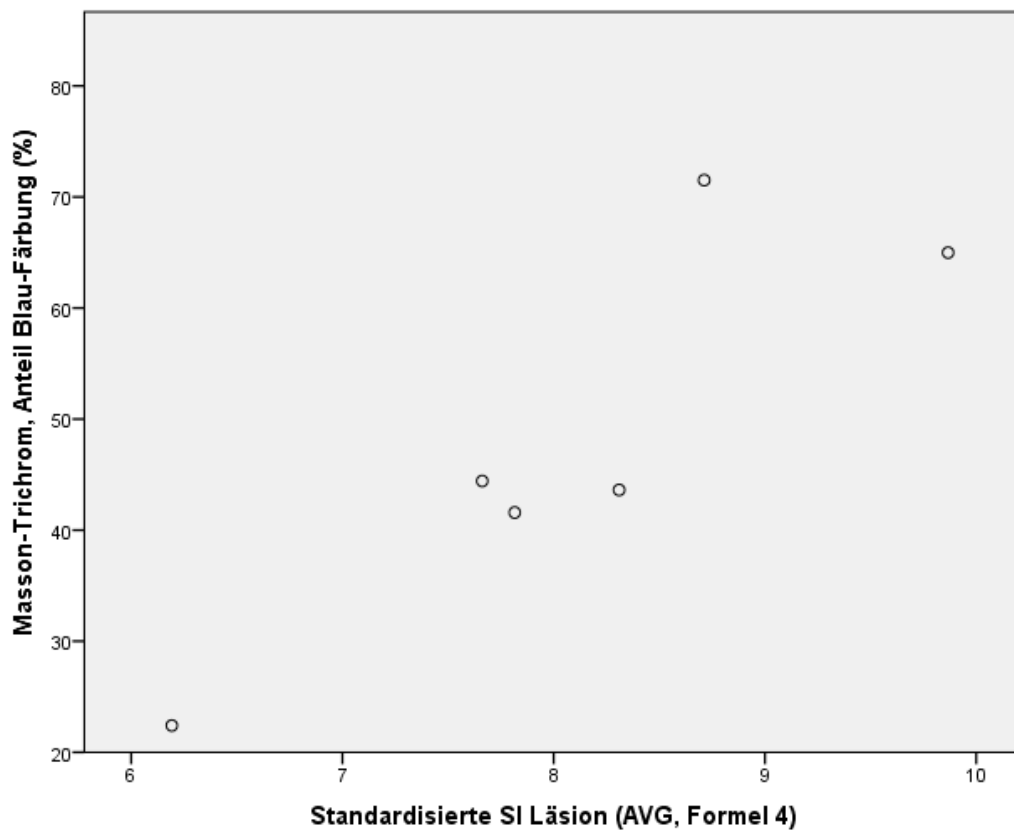


Abb. 6: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

Alle anderen Formeln wiesen unter Verwendung der AVG-SI eine nicht als signifikant zu bezeichnende Korrelation auf (siehe Abb. A 1 – 3, Kapitel 9.1.1).

	AVG-SI Formel 1	AVG-SI Formel 2	AVG-SI Formel 3	AVG-SI Formel 4
Proband 1	11,2	7,05	11,7	7,66
Proband 2	9,01	5,85	7,81	6,19
Proband 3	19,45	13,32	11,34	8,31
Proband 4	14	6,5	12,73	7,82
Proband 5	15,22	6,42	13,05	8,71
Proband 6	12,41	5,62	23,32	9,87

Tab. 9: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 1 bis 4 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

Unter Verwendung der MAX-SI in Formel 4 ist die Korrelation mit $p = 0,043$ auch noch als statistisch signifikant zu betrachten, jedoch scheint der AVG-Wert besser geeignet zu sein.

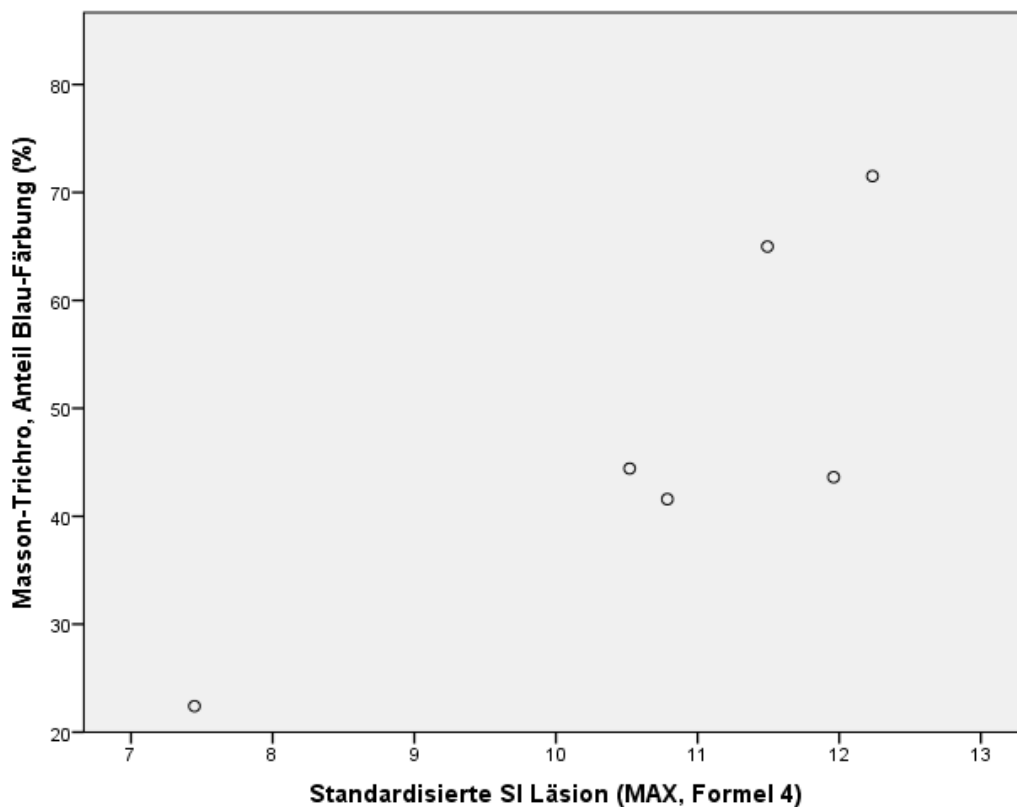


Abb. 7: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

Bei der MAX-SI sind die beiden Formeln deren Zähler die Subtraktion von Läsion und OBS vorsieht nicht einsetzbar, da der Maximalwert der Läsion zumeist auch den der

gesamten Sehnenfläche darstellt. Dadurch ergibt sich ein Ergebnis von Null. Die Formel 3 korreliert ebenso wie bei der AVG-SI nicht mit der Masson-Trichrom-Färbung (siehe Abb. A 4, Kapitel 9.1.1).

	MAX-SI Formel 3	MAX-SI Formel 4
Proband 1	16,07	10,52
Proband 2	9,39	7,45
Proband 3	16,32	11,96
Proband 4	17,57	10,79
Proband 5	18,33	12,23
Proband 6	27,16	11,49

Tab. 10: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 3 und 4 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T₁-Sequenz

Für die HE-Färbung konnte für keine der angewandten Formeln eine Korrelation statistisch nachgewiesen werden (siehe Abb. A 5 – 10, Kapitel 9.1.1).

Vergleicht man die verschiedenen Formeln zur Standardisierung der SI untereinander, ist allerdings festzustellen, dass die Formeln 1 und 2 eine signifikante ($p = 0,049$) Korrelation aufweisen. Ebenso korrelieren die Formeln 3 und 4 miteinander ($p = 0,017$).

Im weiteren Verlauf der Statistik wird auf Basis dieser Ergebnisse jede Auswertung, bei der die SI der Läsion zum Einsatz kommt, auf Grundlage der Formel 4 und des AVG-Wertes beruhen.

4.2 Definition der ROI für die Messung der SI der Sehnenläsion

Bei der Gegenüberstellung der SI der Sehnenläsionen, basierend auf den verschiedenen ROI, konnten für die STIR-, T₁- und T₂-Sequenzen statistisch signifikante Korrelationen mit $p = 0,000$ nachgewiesen werden, sowohl für die Gegenüberstellung der SI der gesamten Läsion vs. der SI der größtmöglichen Kreis-ROI (siehe Abb. 8, Kapitel 4.2 und Abb. A 11 und 13, Kapitel 9.1.2), für die SI der gesamten Läsion vs. der SI der 1 mm² ROI (siehe Abb. 9, Kapitel 4.2 und Abb. A 14 und 16, Kapitel 9.1.2) als auch für die SI der größtmöglichen Kreis-ROI vs. der SI der 1 mm² ROI (siehe Abb. 10, Kapitel 4.2 und Abb. A 17 und 19, Kapitel 9.1.2). In der T₂*-Sequenz wiesen der Vergleich der SI der gesamten Läsion und der SI der größtmöglichen Kreis-ROI ebenfalls einen p -Wert von 0,000 auf (siehe Abb. A 12, Kapitel 9.1.2). Die SI der 1 mm² ROI zeigte mit der SI der gesamten Läsion eine Korrelation mit $p = 0,017$ (siehe Abb. A 15, Kapitel 9.1.2) und mit der SI der größtmöglichen Kreis-ROI eine Korrelation mit $p = 0,016$ (siehe Abb. A 18, Kapitel 9.1.2). Für alle Sequenzen zeigten die Streudiagramme, dass der lineare

Zusammenhang der SI-Werte der 1 mm² ROI mit den Werten der größeren ROI weniger ausgeprägt ist, wie anhand der Werte aus der T₁-Sequenz illustriert.

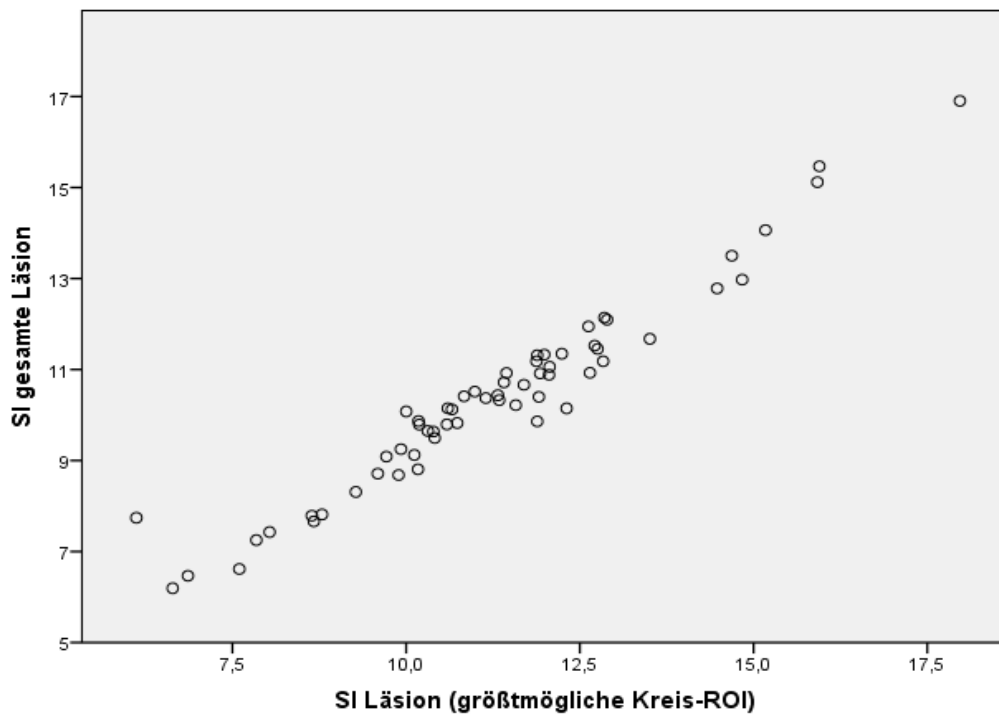


Abb. 8: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der T₁-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

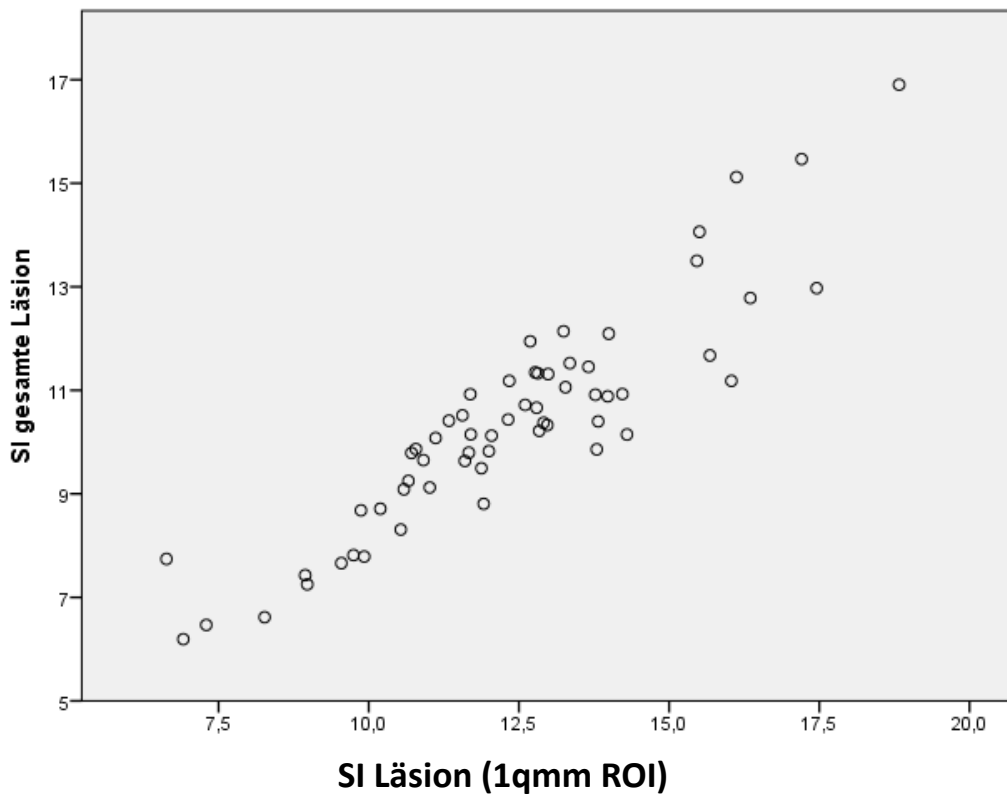


Abb. 9: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1 mm²) in der T₁-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

Im Wilcoxon-Signed-Rank-Test wurden in allen Sequenzen statistisch signifikante Unterschiede ($p = 0,000$; alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst) zwischen den Werten der unterschiedlich großen ROI erkannt. Dabei sind die berechneten SI umso größer, je kleiner die verwendete ROI ist (siehe Abb. 10, A 17-19). Über den Untersuchungszeitraum hinweg ergibt sich am Beispiel der T₁-Sequenz daraus folgender graphischer Verlauf:

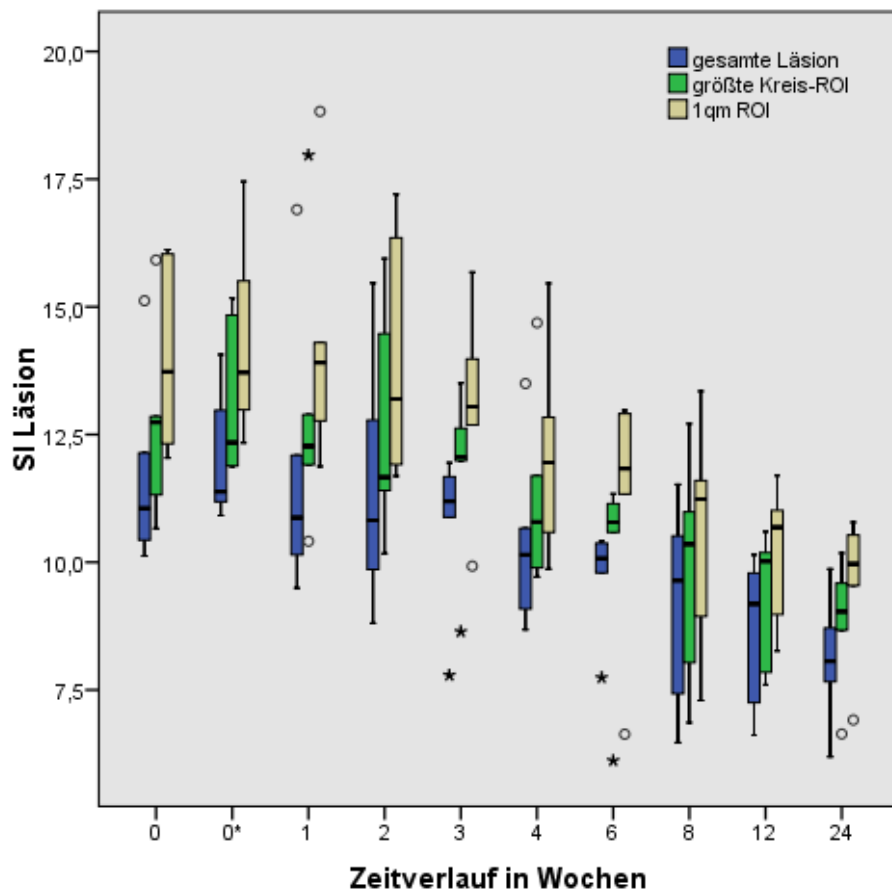


Abb. 10: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der T_1 -Sequenz, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.

4.3 CSA-Messungen der Maximalbereiche im Vergleich zur gesamten Läsion

Sowohl die MAX-CSA als auch die angepasste CSA korrelierten signifikant mit der MW-CSA ebenso wie untereinander ($p = 0,000$). Die Streudiagramme zeigen allerdings, dass die MAX-CSA repräsentativer für die MW-CSA und somit für die gesamte Sehnenläsion ist als die angepasste CSA (siehe Abb. 11 und 12, Kapitel 4.3 und Abb. A 20-25, Kapitel 9.1.3).

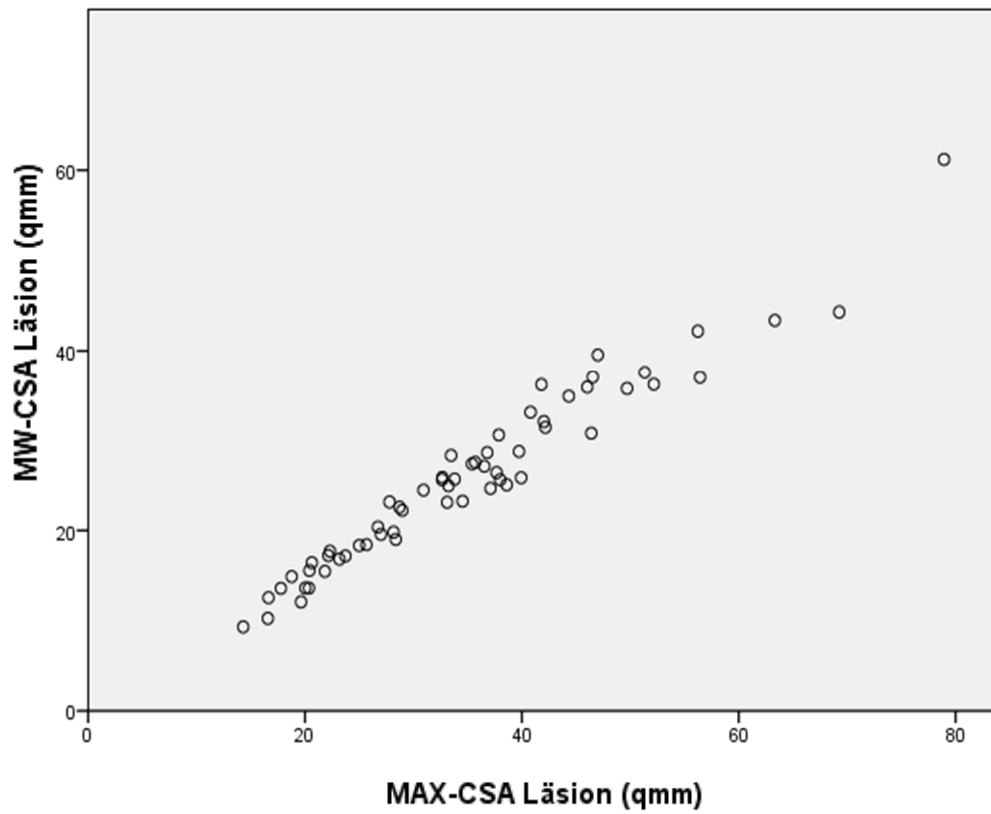


Abb. 11: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der T_1 -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

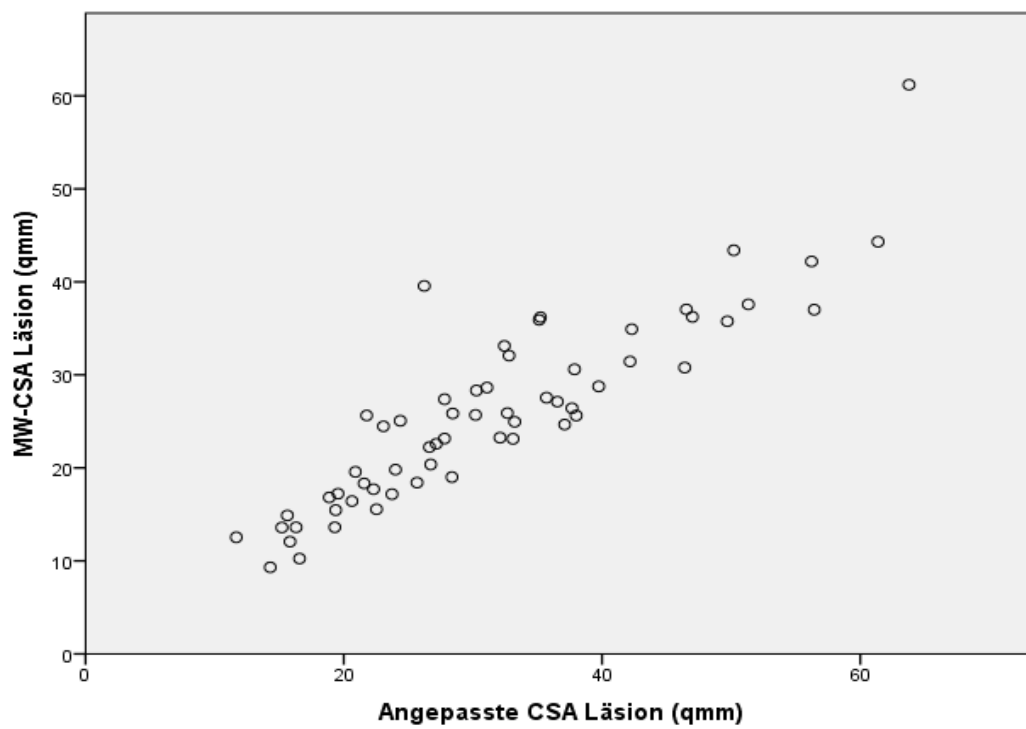


Abb. 12: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der T_1 -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

Im Wilcoxon-Signed-Rank-Test wurden jedoch statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Werten der einzelnen Messungen erkannt ($p = 0,000$; alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst). Dabei war nicht nur die MW-CSA deutlich niedriger als die MAX- oder angepasste CSA, sondern auch die angepasste CSA als die MAX-CSA (siehe Abb. 13, Kapitel 4.3 und Abb. A 26-28, Kapitel 9.1.3). Über den Untersuchungszeitraum hinweg ergibt sich am Beispiel der T_1 -Sequenz daraus folgender graphischer Verlauf.

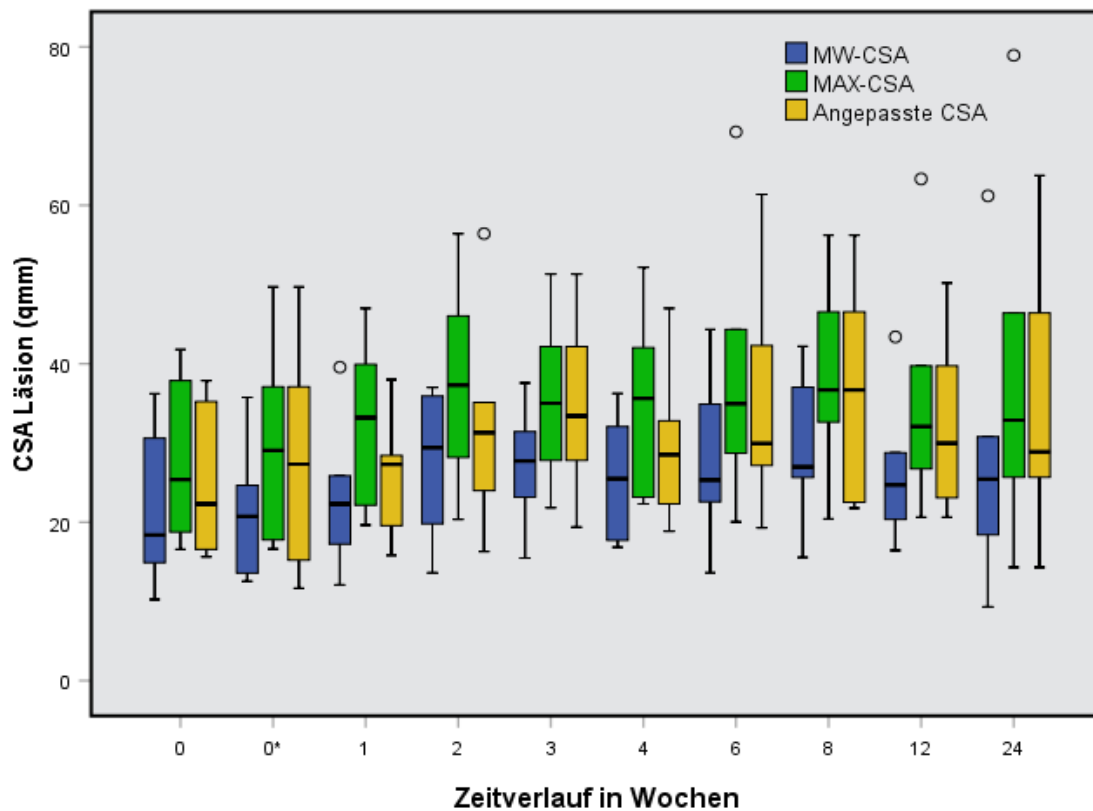


Abb. 13: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der T_1 -Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation

4.4 Gegenüberstellung der manuellen und automatisierten Messungen

Anhand der drei Parameter SI, CSA und Läsionsvolumen wurde die automatisierte Messung mittels Mathematica der manuellen Messung im Synedra gegenübergestellt.

4.4.1 Vergleich der SI-Bestimmung

Für die SI-Messung ergab sich eine gute Korrelation der mittels Synedra und Mathematica ermittelten Werte ($p = 0,000$) für alle MRT-Sequenzen (siehe Abb. 14, Kapitel 4.4.1 und Abb. A 29-31, Kapitel 9.1.4).

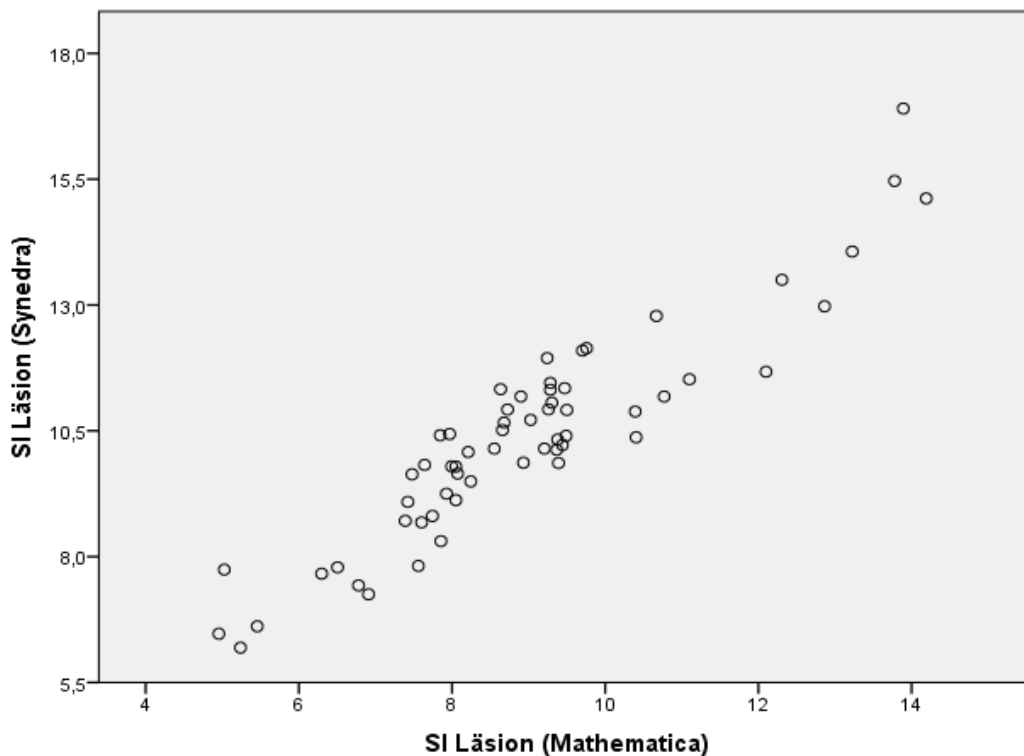


Abb. 14: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der T_1 -Sequenz

Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test ergab wiederum, dass bei den STIR-, T_1 - und T_2^* -Sequenzen die in Synedra und Mathematica ermittelten SI-Werte dennoch signifikant verschieden voneinander sind ($p = 0,000$, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst) (siehe Abb. 15, Kapitel 4.4.1 und Abb. A 33 und 34, Kapitel 9.1.4). Dabei ist die mittels Mathematica bestimmte SI geringer als die der Synedra-Messung, wie für die T_1 -Sequenz exemplarisch im zeitlichen Verlauf dargestellt (siehe Abb. 15, Kapitel 4.4.1). In der T_2 -Sequenz ist diese Tendenz jedoch nicht signifikant nachweisbar ($p = 0,129$; alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst) (siehe Abb. A 32, Kapitel 9.1.4).

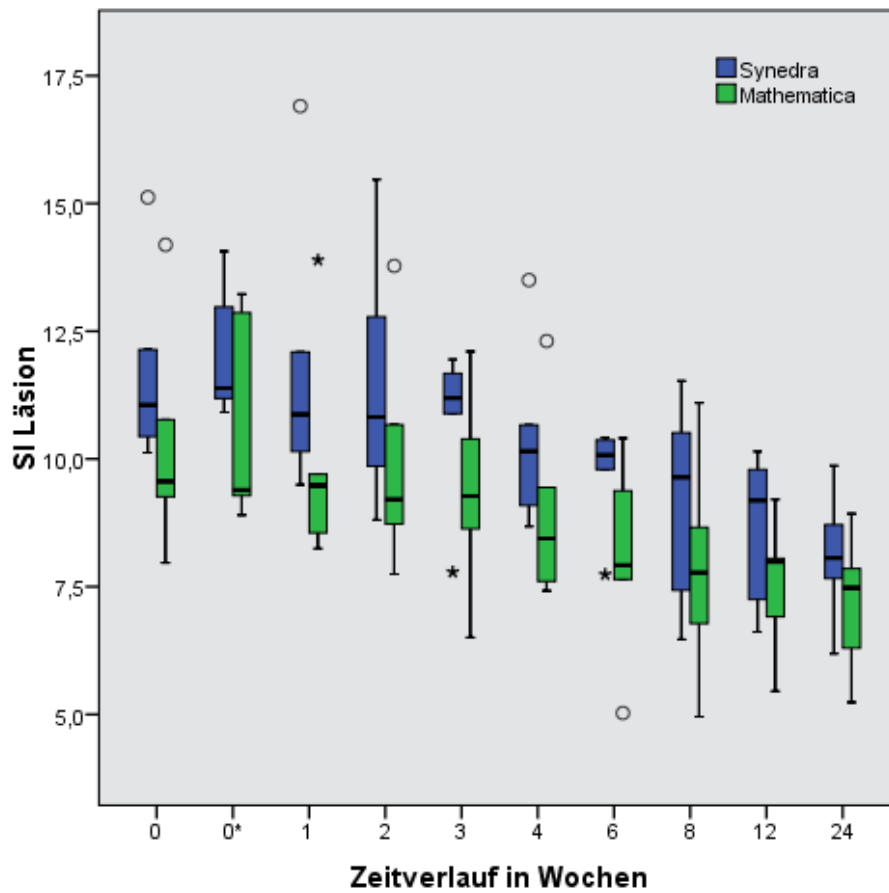


Abb. 15: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_1 -Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, $n = 60$; 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

4.4.2 Vergleich der CSA-Bestimmung

Hinsichtlich der CSA der Sehnenläsionen ergab sich für alle Sequenzen eine statistisch signifikante Korrelation ($p = 0,000$; für STIR: $p = 0,002$) zwischen den Werten der beiden Programme (siehe Abb. 16, Kapitel 4.4.2 und Abb. A 35 – 37, Kapitel 9.1.5).

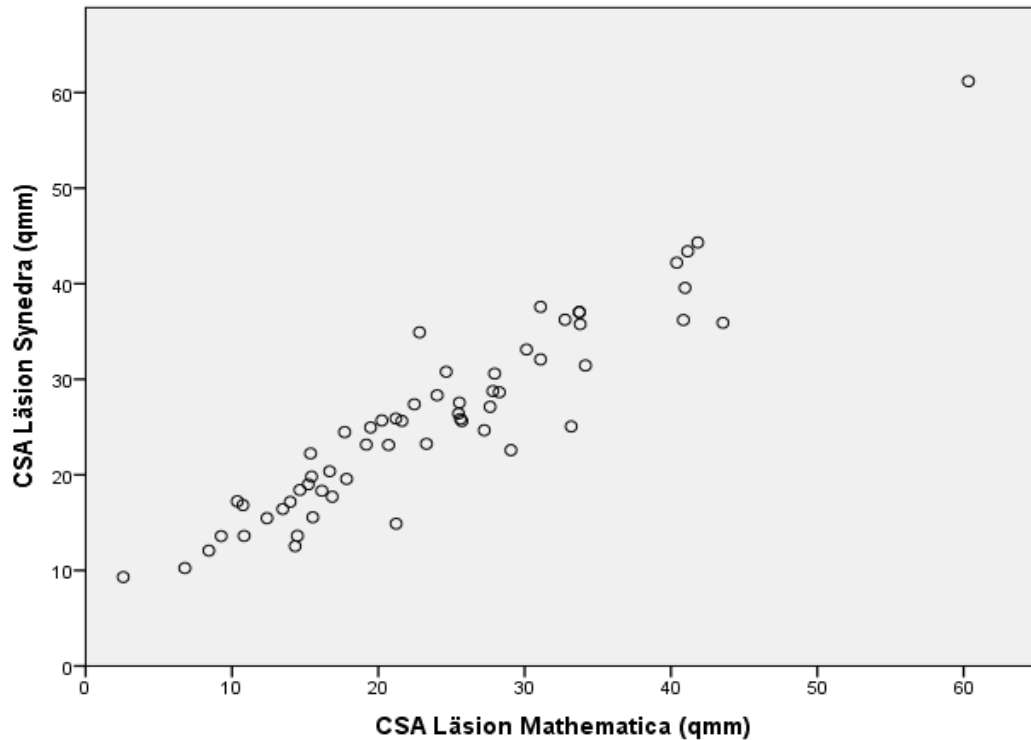


Abb. 16: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der T_1 -Sequenz

Im Wilcoxon-Signed-Rank-Test erwiesen sich die Werte jedoch in allen vier Sequenzen wieder als signifikant verschieden ($p = 0,000$). Dabei waren die mittels Mathematica ermittelten Werte zumeist niedriger als die Werte aus den Synedra-Messungen, wie anhand der T_1 -Sequenz im zeitlichen Verlauf exemplarisch dargestellt (siehe Abb. 17, Kapitel 4.4.2 und Abb. A 38-40, Kapitel 9.1.5).

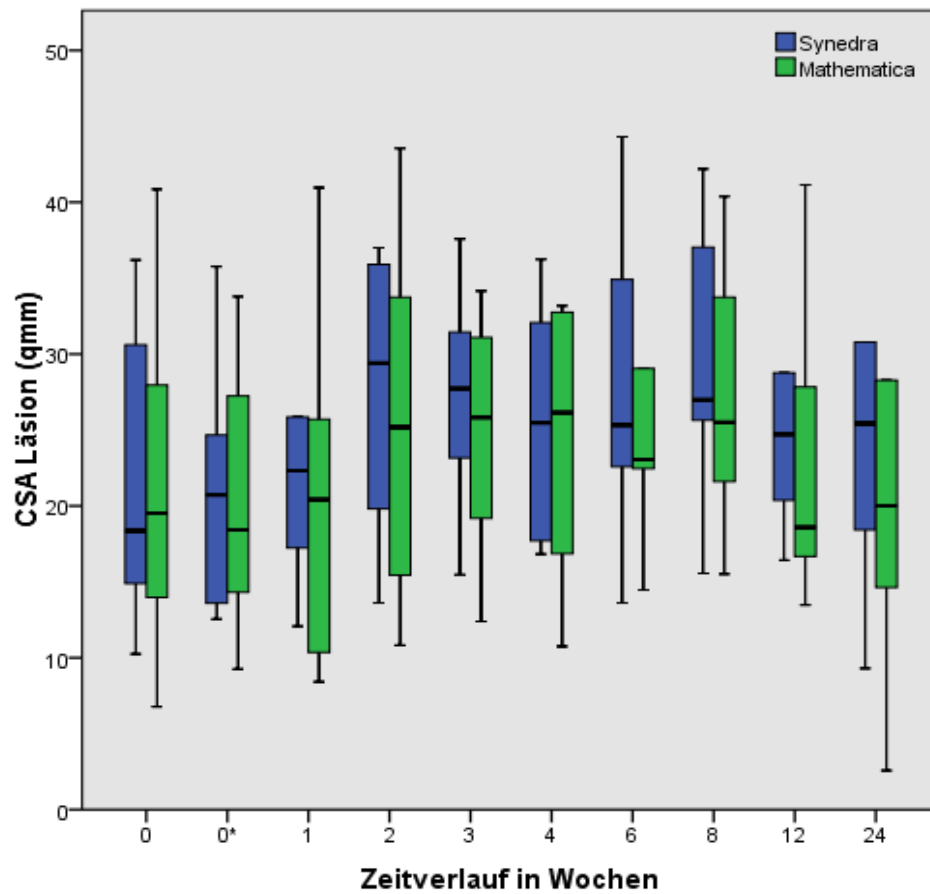


Abb. 17: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_1 -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 60$; 0* = nach Serumapplikation, Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

4.4.3 Vergleich der Volumenberechnung

Die statistische Auswertung ergab, dass die Werte aus Synedra und Mathematica bei der Bestimmung des Läsionsvolumens miteinander sehr gut korrelieren. Die Korrelation war hierbei statistisch signifikant mit $p = 0,000$ für die T_1 -, T_2 - und T_2^* -Sequenz (siehe Abb. 18, Kapitel 4.4.3 und Abb. A 41 und 42, Kapitel 9.1.6). In der STIR-Sequenz konnte eine statistische Signifikanz mit $p = 0,002$ ermittelt werden (siehe Abb. A 43, Kapitel 9.1.6).

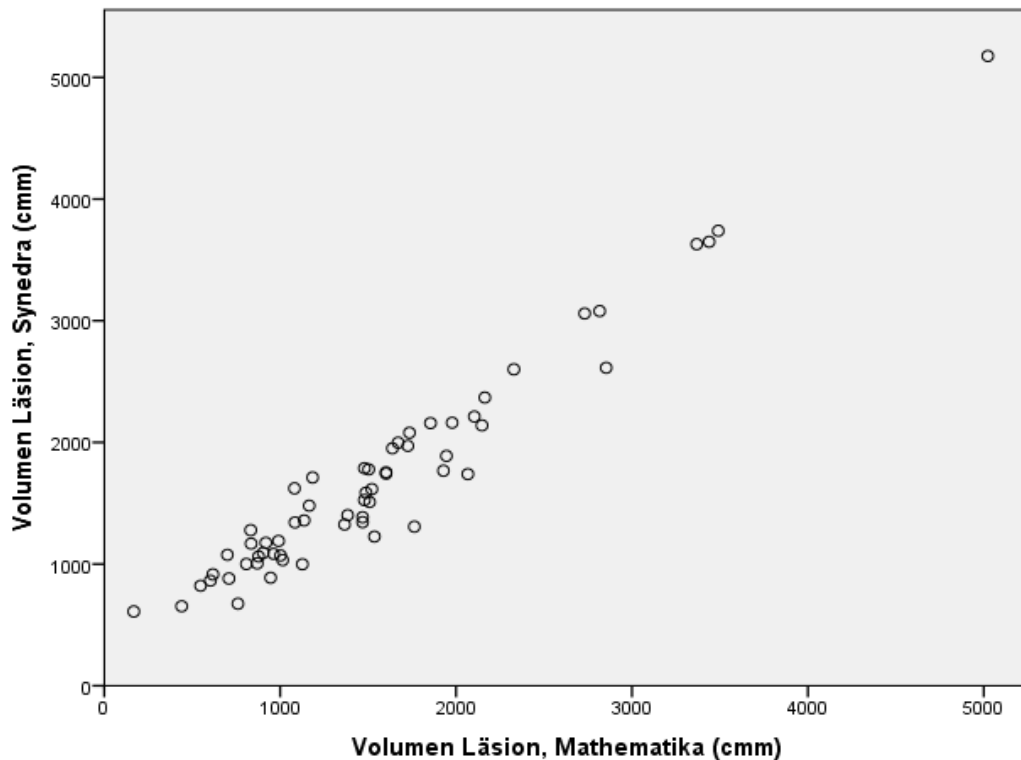


Abb. 18: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der T_1 -Sequenz

Im Wilcoxon-Signed-Rank-Test erwiesen sich die Werte jedoch wieder als signifikant unterschiedlich ($p = 0,000$) in allen vier Sequenzen. Dabei waren die mittels Mathematica ermittelten Volumina niedriger als diejenigen aus den Synedra-Messungen (siehe Abb. 19, Kapitel 4.4.3 und Abb. A 44-46, Kapitel 9.1.6).

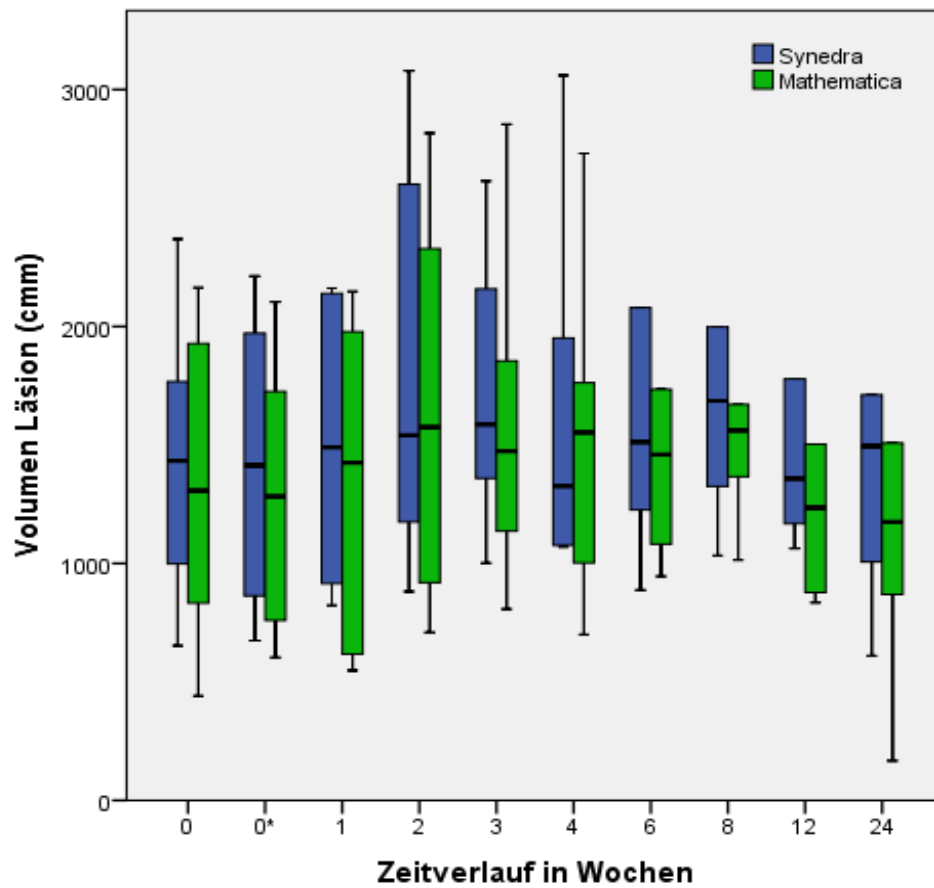


Abb. 19: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_1 -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 60$; 0* = nach Serumapplikation

4.5 Eignung von Ultraschall und verschiedenen MRT-Sequenzen für Diagnose und Verlaufskontrollen von Sehnenläsionen

4.5.1 Gegenüberstellung von MRT und Ultraschall

4.5.1.1 Ultraschall und T₁-Sequenz

Hier wurde auf Basis der MAX-CSA-Werte eine statistisch signifikante Korrelation ($p = 0,035$) ermittelt, die, wie im Punktediagramm ersichtlich, dennoch keine eindeutige lineare Beziehung aufweist.

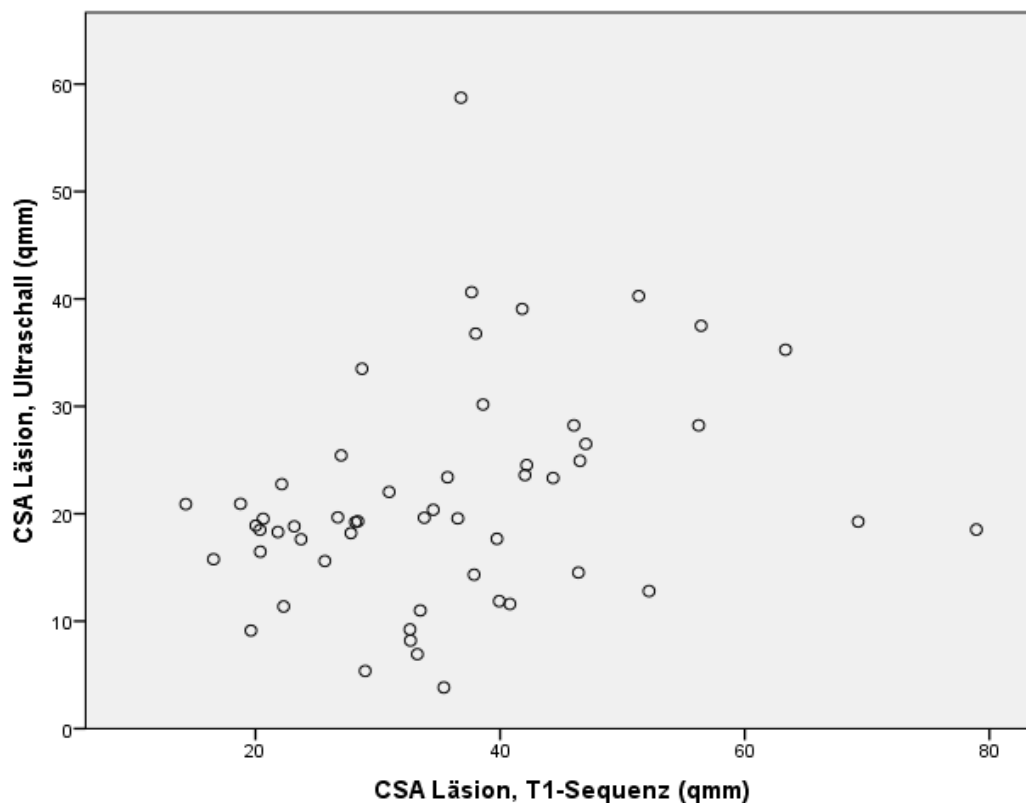


Abb. 20: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und T₁-Sequenz

Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test ergab, dass die Zahlenwerte signifikant verschieden sind ($p = 0,000$; alle Zeitpunkte zusammengefasst). Dabei waren die Werte der T₁-Sequenz höher als die der Ultraschall-Messung (siehe Abb. 24, Kapitel 4.5.1.5).

4.5.1.2 Ultraschall und T₂-Sequenz

Die Ergebnisse auf Basis der MAX-CSA-Werte ähneln denen des Vergleiches von Ultraschall und T₁-Sequenz. Der p -Wert gibt mit 0,027 eine statistisch signifikante Korrelation an, die jedoch im Diagramm eine deutliche Streuung aufweist.

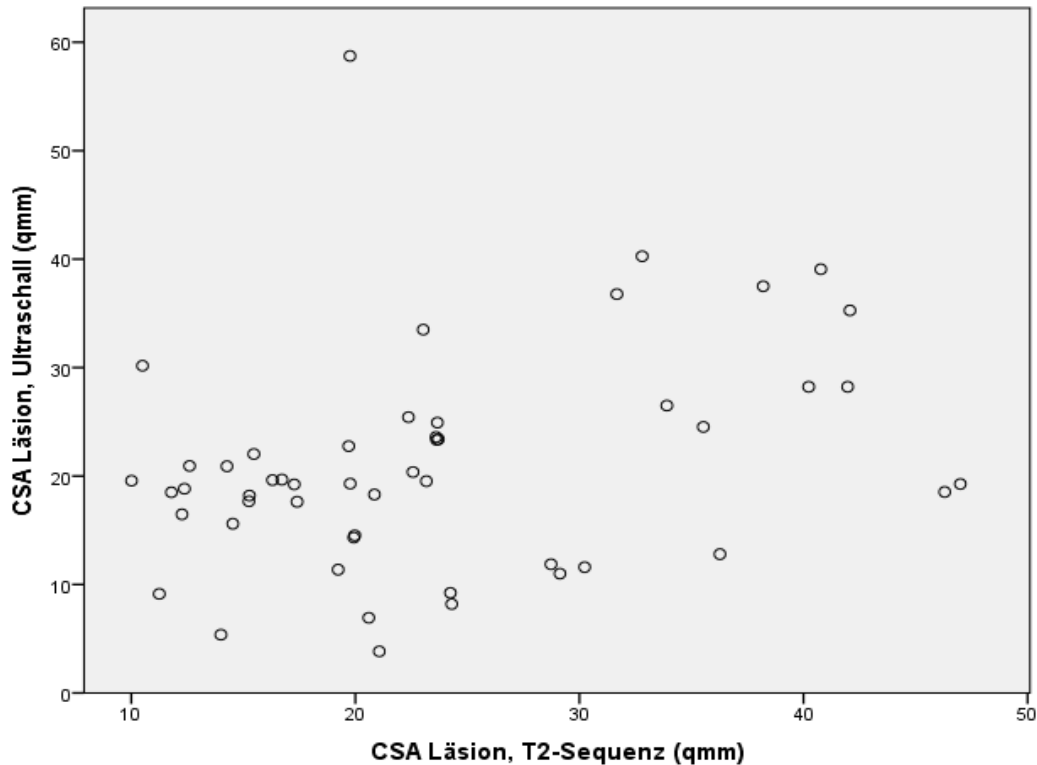


Abb. 21: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und T₂-Sequenz

Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test ergab wiederum, dass die Zahlenwerte voneinander verschieden sind, jedoch war diese Tendenz nicht statistisch signifikant ($p = 0,143$; alle Zeitpunkte zusammengefasst). Dabei waren die Werte der T₂-Sequenz nur bei 28 von 51 Messungen höher als die der Ultraschall-Messung. Es ist demnach keine so eindeutige Tendenz zu erkennen, wie bei der T₁-Sequenz (siehe Abb. 24, Kapitel 4.5.1.5).

4.5.1.3 Ultraschall und T₂*-Sequenz

Die Auswertung ergab hierbei, dass auf Basis der MAX-CSA-Werte keine signifikante Korrelation vorliegt ($p = 0,111$). In der graphischen Darstellung ist dementsprechend eine weite Streuung der Daten ersichtlich.

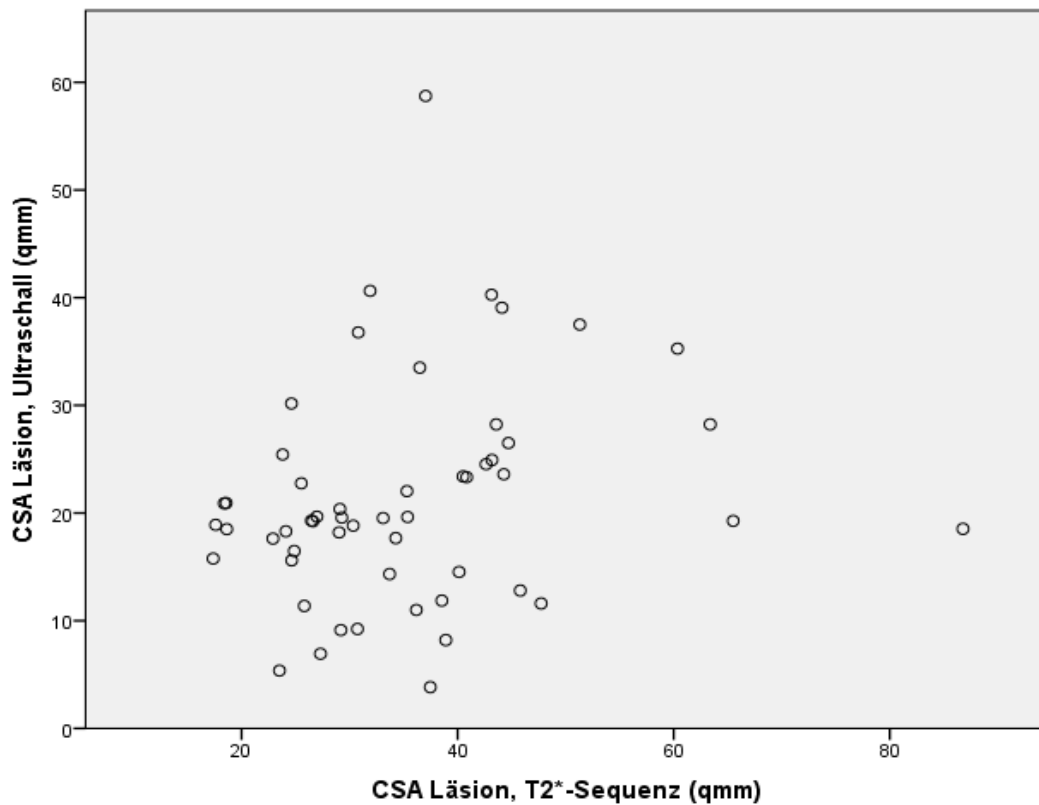


Abb. 22: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und T_2^* -Sequenz

Der Wilcoxon-Signed-Ranks-Test ergab auch bei diesem Vergleich, dass die Messwerte deutlich verschieden voneinander sind ($p = 0,000$: alle Zeitpunkte zusammengefasst). Erneut ist eine deutliche Tendenz zu erkennen, dass die CSA im Ultraschallbild vergleichsweise kleiner erscheinen als im MRT-Bild (siehe Abb. 24, Kapitel 4.5.1.5).

4.5.1.4 Ultraschall und STIR-Sequenz

In der statistischen Auswertung konnte hier auf Basis der MAX-CSA-Werte keine signifikante Korrelation ($p = 0,117$) nachgewiesen werden. Im Streudiagramm ist keine lineare Abhängigkeit zu erkennen.

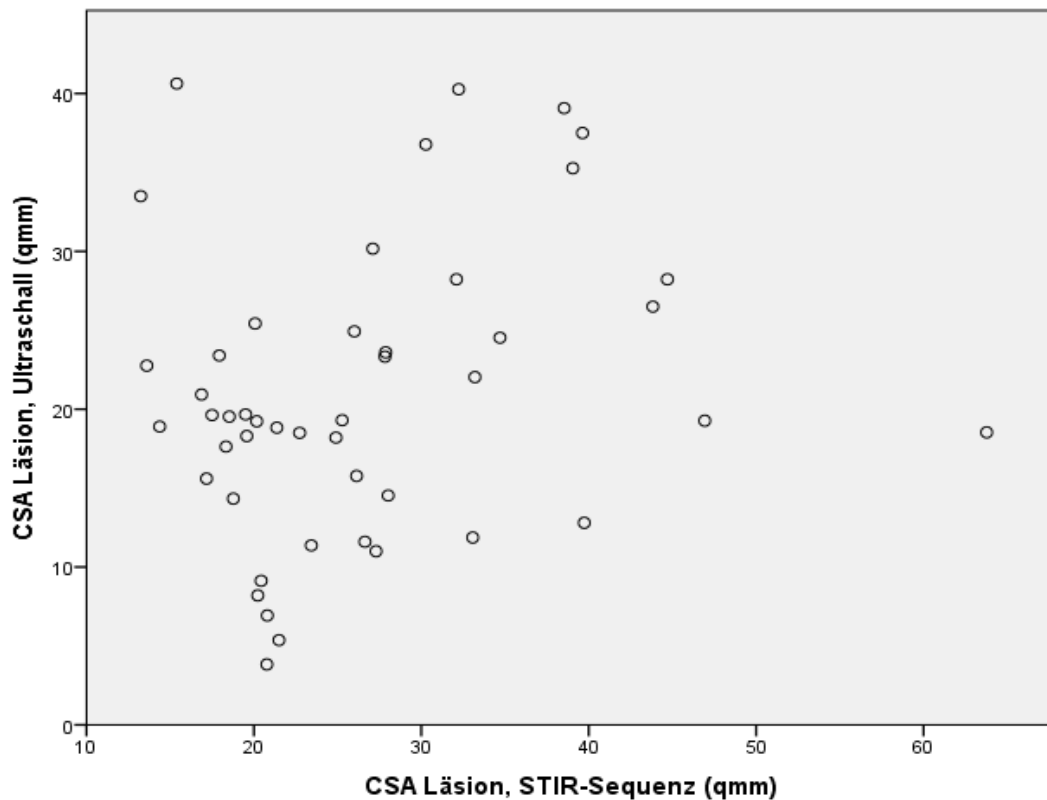


Abb. 23: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und STIR-Sequenz

Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test ergab erneut, dass die Zahlenwerte signifikant verschieden sind ($p = 0,001$; alle Zeitpunkte zusammengefasst). Dabei waren die CSA-Werte der STIR-Sequenz höher als die der Ultraschall-Messung (siehe Abb. 24, Kapitel 4.5.1.5).

4.5.1.5 Darstellung des Heilungsverlaufs in Ultraschall und MRT

In der Darstellung als Boxplot über die Zeit sind die zuvor benannten Ergebnisse nachzuvollziehen. Die Werte der maximalen CSA sind im Ultraschall deutlich kleiner, wobei der Unterschied zur T_2 -Sequenz am wenigsten ausgeprägt ist. Zwei Wochen post injectionem wird die Divergenz der MRT-Werte zu den Ultraschall-Werten größer. Dem sinkenden Ultraschall-Wert folgend wird vier Wochen post injectionem der CSA-Wert der T_2 -Sequenz auch geringer. Diese Tendenz veranschaulicht die zuvor festgestellte Korrelation von Ultraschall- und T_2 -Werten, die für die vier ausgewerteten Vergleiche die stärkste Korrelation aufweist.

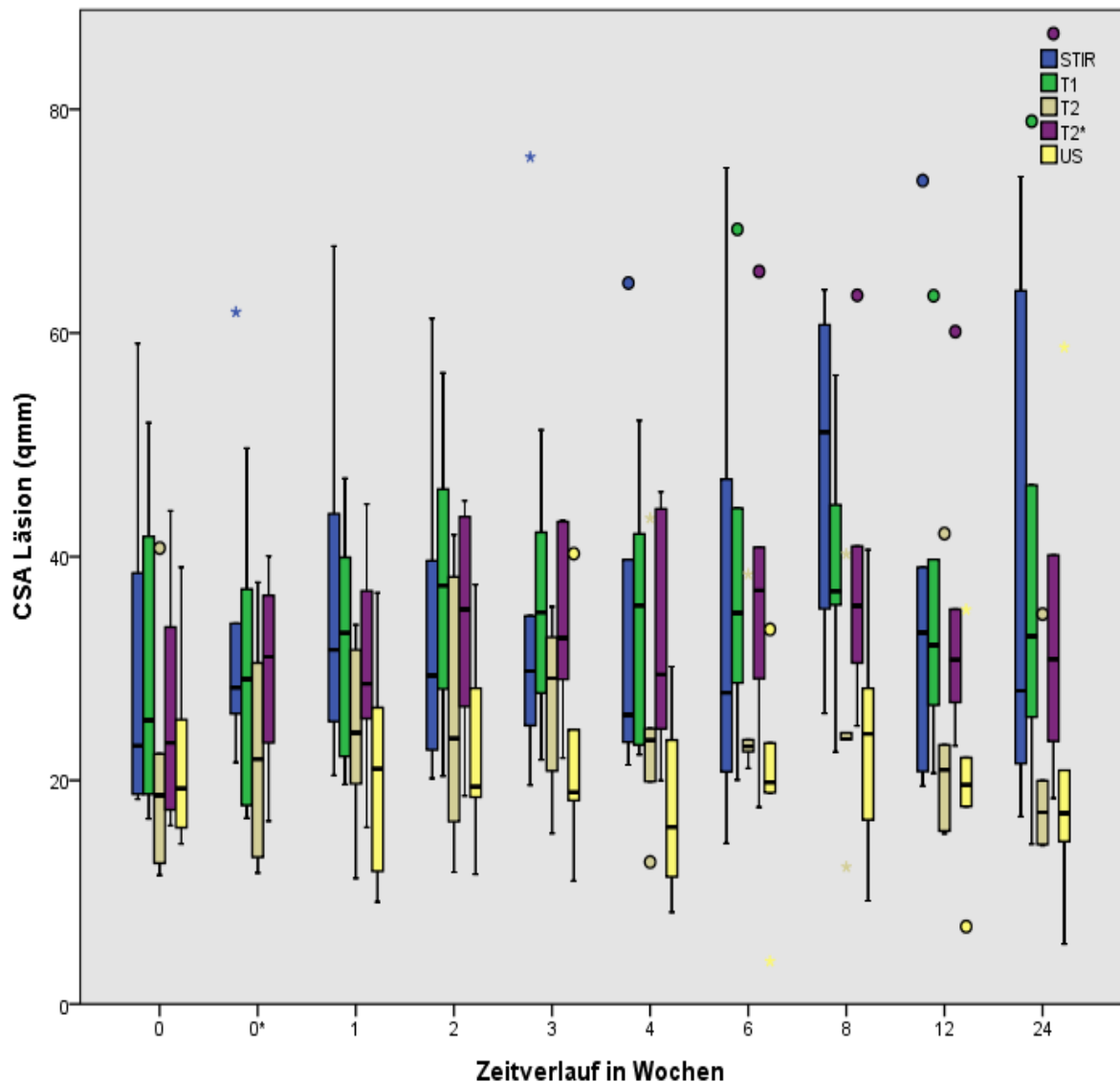


Abb. 24: MAX-CSA der Läsion in MRT- und Ultraschall-Messung zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, $n(T_1) = 54$, $n(T_2) = 51$, $n(T_2^*) = 54$, $n(STIR) = 18$; 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

4.6 Darstellung des Heilungsverlaufs in verschiedenen MRT-Sequenzen

4.6.1 SI der Läsion

Unterteilt nach den MRT-Sequenzen lässt sich über den gesamten Untersuchungszeitraum die Entwicklung der SI mittels Boxplot graphisch darstellen. In der T_1 -Sequenz lässt sich 4 Wochen post applicationem ein Abfall der SI erkennen. Bis dahin ist der Median der SI auf einem relativ konstant hohen Level. Bei der T_2 -Sequenz fallen die SI bereits eine Woche nach der Serum-Applikation ab. Zum nächsten Untersuchungszeitpunkt zwei Wochen post applicationem fällt auch die SI für die T_2^* -Sequenz ab. Danach ist 4 Wochen post applicationem ein erneuter Peak zu beobachten.

Die STIR-Sequenz lieferte in dieser Studie sehr viele Aufnahmen mit Bildartefakten, weshalb für die statistische Auswertung nur wenige Bilder zur Verfügung standen. Über den gesamten Untersuchungszeitraum sind nur für Proband 6 alle Werte vorhanden (siehe Tab. A 1, Kapitel 9.1.7). Bewertet man nur die SI-Werte von Proband 6, zeigt sich ein Peak direkt nach Applikation mit anschließendem Absinken der SI. Aufgrund der wenigen Werte ist dies jedoch nicht repräsentativ.

Beim Vergleich der SI der Sequenzen untereinander ist zu jedem Zeitpunkt die gleiche Rangierung vorhanden. Das stärkste Signal wird in der T_1 -Sequenz gemessen. Darauf folgt die T_2^* - und zuletzt die T_2 -Sequenz. Um für die STIR-Sequenz eine verlässliche Aussage zu treffen, sind in der vorliegenden Studie zu wenige Werte mit eingegangen.

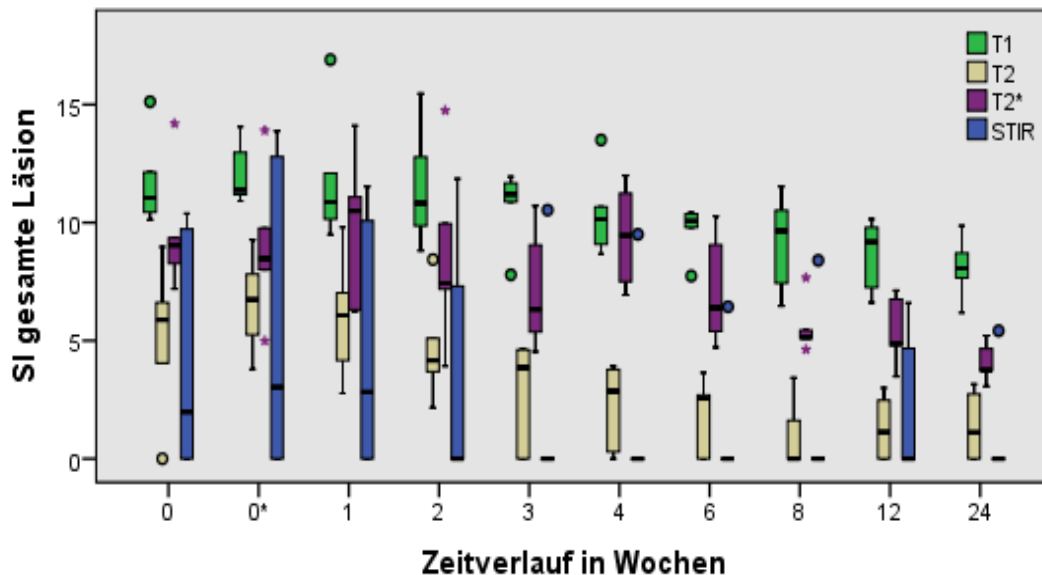


Abb. 25: SI der Läsion standardisiert nach Formel 4 in der Synedra-Messung zu allen zehn Messzeitpunkten, $n(T_1) = 60$, $n(T_2) = 51$, $n(T_2^*) = 59$, $n(STIR) = 39$; 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

4.6.2 CSA der Läsion

Unterteilt nach den MRT-Sequenzen lässt sich über den gesamten Unterzeitraum die Entwicklung der MW-CSA mittels Boxplot graphisch darstellen. Für die T_1 -Sequenz lässt sich in der Synedra-Messung ein Maximum 2 Wochen post applicationem feststellen. Die danach folgende stetige Verkleinerung der CSA wird nur durch einen kleinen erneuten Anstieg 8 Wochen post applicationem unterbrochen. Für die T_2 -Sequenz ist ein plateauartiger Verlauf von 2 bis 6 Woche post applicationem festzustellen. Die T_2^* -Sequenz ähnelt in ihrem Verlauf der T_1 -Sequenz. Die STIR-Sequenz ist auch in dieser Messung mit nur sehr wenigen Werten vertreten. Bei Proband 6 konnten zu allen Zeitpunkten Daten erfasst werden (siehe Abb. A 2, Kapitel

9.1.7). Bezieht man nur diese Werte ein kann hier ähnlich der T_1 -Sequenz ein Peak 2 Wochen post applicationem und ein weiteres Hoch, welches das Ausmaß des ersten sogar noch übertrifft, 6 bis 8 Wochen post applicationem festgestellt werden. Der Höchstwert zum letzten Untersuchungszeitpunkt, 24 Wochen post applicationem, ist bei Proband 6 in allen Sequenzen feststellbar. Die Daten nur eines Probanden können jedoch nicht als statistisch repräsentativ angesehen werden.

Vergleicht man die Werte der verschiedenen Sequenzen untereinander ist festzustellen, dass die T_1 - und T_2^* -Sequenz ähnliche Werte ergeben. Deutlich geringere Werte sind für die T_2 -Sequenz zu verzeichnen, wobei die Diskrepanz der Mediane mit zunehmendem Zeitverlauf größer wird. Für die STIR-Sequenz ist auch hier, aufgrund der geringen Bildzahl, keine verlässliche Aussage zu treffen.

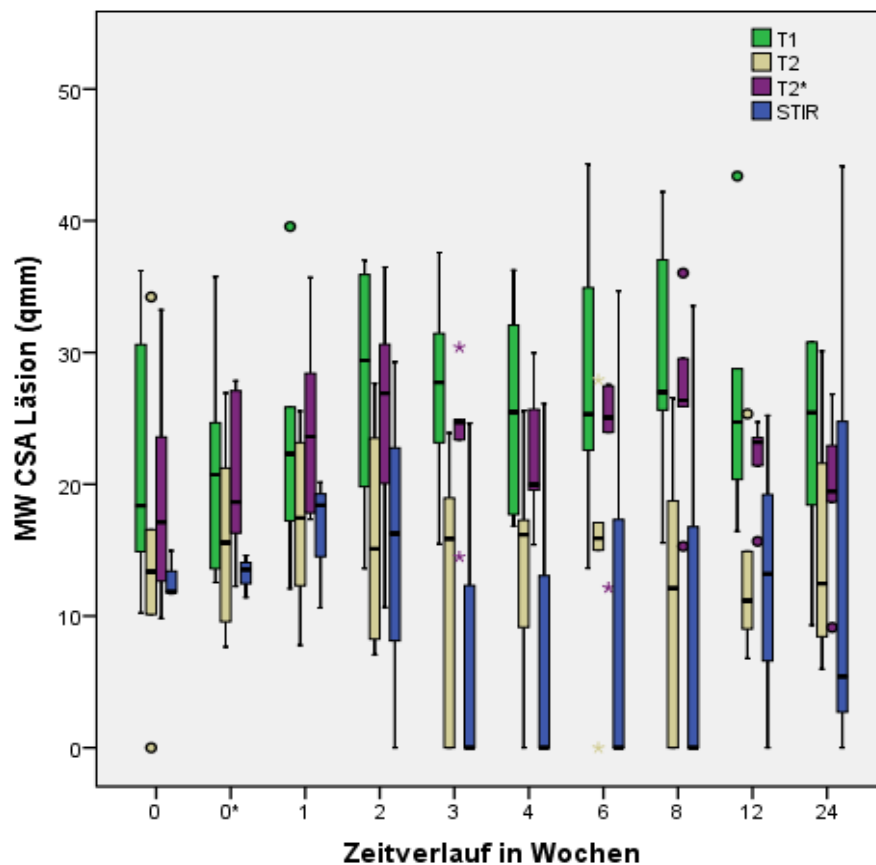


Abb. 26: MW-CSA der Läsion in der Synedra-Messung zu allen zehn Messzeitpunkten, $n(T_1) = 60$, $n(T_2) = 54$, $n(T_2^*) = 60$, $n(STIR) = 19$; 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

4.6.3 Volumen der Läsion

Unterteilt nach den MRT-Sequenzen lässt sich über den gesamten Unterzeitraum die Entwicklung des Läsionsvolumens mittels Boxplot graphisch darstellen. Für die T_1 -Sequenz kann ein Anstieg des Volumens bis 3 Wochen post applicationem in der Synedra-Messung festgestellt werden. Die Werte bleiben unter kleinen Schwankungen

bis 8 Wochen post applicationem auf einem Plateau. In der T_2 -Sequenz kann kein so deutlicher Anstieg des Medianes während des Untersuchungszeitraumes beobachtet werden. Es wird dennoch 3 Wochen post applicationem der höchste Medianwert der Läsionsvolumenbestimmung verzeichnet. Für die T_2^* -Sequenz ist ein Läsionsvolumenmaximum 2 Wochen post applicationem ersichtlich. Im Anschluss erfolgt ein etwas unsteter und langsamer Abfall. Bei der STIR-Sequenz waren wiederum nur verwertbare Bilder für Proband 6 zu allen Untersuchungszeitpunkten vorhanden (siehe Abb. A 3, Kapitel 9.1.7). Betrachtet man nur die Werte dieses einen Pferdes, wird 6 Wochen post applicationem ein Maximum erreicht. Zwei Wochen post applicationem war ebenfalls ein Peak zu verzeichnen. Der erneute Anstieg bei der letzten Untersuchung, 24 Wochen post applicationem, ist bei diesem Probanden in allen 4 MRT-Sequenzen vorhanden.

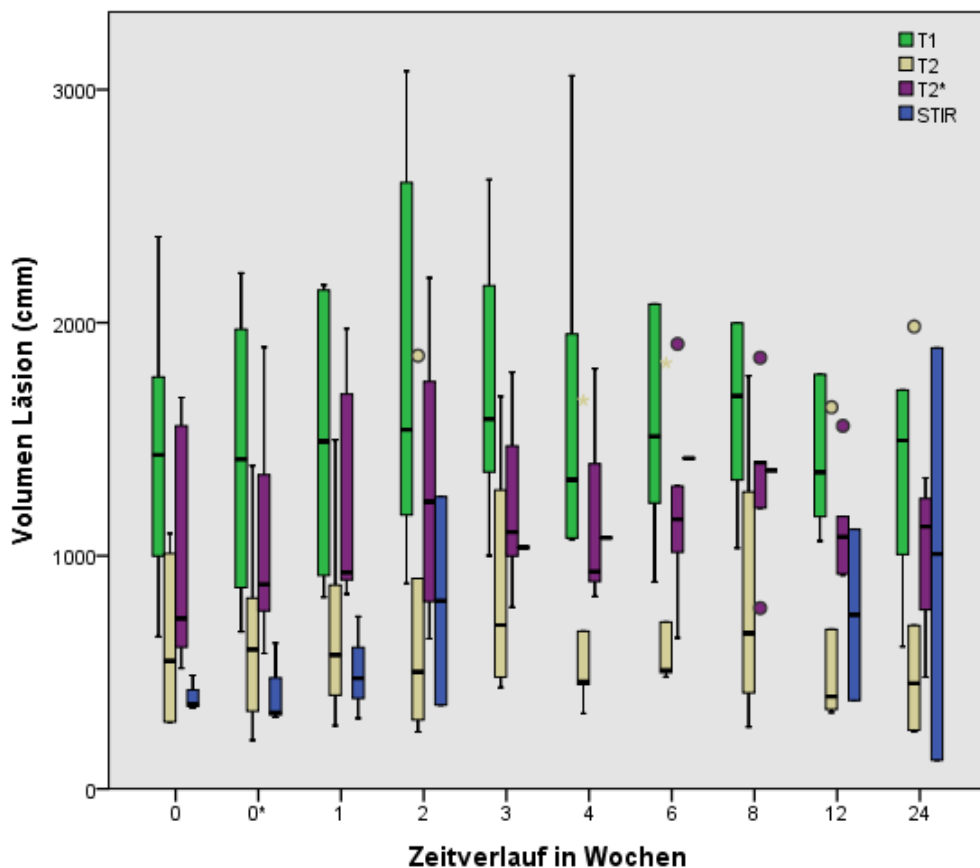


Abb. 27: Volumen der Läsion in der Synedra-Messung zu allen zehn Messzeitpunkten, $n(T_1) = 60$, $n(T_2) = 54$, $n(T_2^*) = 60$, $n(STIR) = 19$; 0* = nach Serumapplikation, Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

5 DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es verschiedene Methoden der Datenerfassung aus MRT- und Ultraschall-Bildern auf ihre Aussage und Vergleichbarkeit zu überprüfen. Einerseits ist es so möglich die Ergebnisse verschiedener Studien besser miteinander vergleichen zu können. Andererseits können Bildaufnahme- und Auswertungsverfahren möglicherweise in ihrem Zeitaufwand reduziert werden.

5.1 Diskussion der Standardisierung der SI der Sehnenläsion

Die SI ist ein Messwert, der sehr stark von den Grundeinstellungen für die jeweilige MRT-Sequenz und etwaigen Bildartefakten abhängt. Es wurden daher von verschiedenen Autoren Möglichkeiten entwickelt die gemessene SI mittels weiterer Bildwerte zu standardisieren, um deren Entwicklung über einen Zeitverlauf hinweg beurteilen zu können. KRUGER et al. (2000) untersuchten die Korrelation des Signaldifferenz-Rausch-Verhältnis (SDNR), bei dem die SI der OBS von der SI der Läsion subtrahiert wird und anschließend durch das Signal des Hintergrundes dividiert wird mit dem Signal-Rausch-Verhältnis (SNR), bei dem die SI der Läsion durch das Signal des Hintergrundes dividiert wird. SCHRAMME et al. (2010) verwandten anstatt der SI der OBS die der TBS. KARLIN et al. (2011) setzten zwei identisch große ROI in die Läsion und in den Hintergrund und dividierte deren SI als Mittelwerte miteinander. MILNER et al. (2012) verwandten anstatt des Hintergrundes die Kortikalis des Röhrebeines. Die Struktur des Knochens zeigt sehr konstante SI, da Veränderungen dort nur sehr langsam von statten gehen (MILNER et al. 2012). WATTS et al. (2012) benutzten als Referenzsignal das Knochenmark, wobei in dieser Studie nur T_1 -Sequenzen angefertigt wurden. Bewertet wurde hier mittels eines subjektiven Scoring-Systems, das zwischen hypo-, iso- und hyperintens differenzierte.

Auf dieser Grundlage wurden in der vorliegenden Arbeit vier Formeln genutzt, die die unterschiedlichen Methoden in sich vereinen (siehe Kapitel 3.6.1.3.3). Um die Aussagekraft der vier Formeln zu beurteilen, diente die Histologie des Sehnengewebes 24 Wochen post applicationem als Vergleich. Dabei ergab sich für die Formel 4 eine sehr gute Korrelation mit der Masson-Trichrom-Färbung. Unter Verwendung des AVG-Wertes für die SI der Läsion betrug p 0,019 und für den Maximal-Wert der SI der Läsion 0,043. Beides ist als statistisch signifikant anzusehen, jedoch scheint der AVG-Wert besser geeignet zu sein. Das liegt möglicherweise daran, dass der AVG-Wert ein besseres Abbild der gesamten Läsion darstellt, da er ein Durchschnittswert aller SI innerhalb der Läsion ist. Die Verwendung des Maximal-Wertes birgt vor allem das Risiko, dass innerhalb eines Bildartefaktes eine zu hohe SI gemessen wird, die dann fälschlicherweise der Berechnungsgrundlage dient. Demnach ist der AVG-Wert wegen seiner geringeren Fehleranfälligkeit vorzuziehen.

Beim statistischen Vergleich der Formeln untereinander ist eine signifikante Korrelation bei gleichem Zähler erkennbar (Formel 1 und 2: $p = 0,049$; Formel 3 und 4: $p = 0,007$). Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass es zweitrangig ist, ob als Referenzpunkt der Hintergrund oder die Kortikalis benutzt wird. Ein deutlicher Unterschied ist jedoch erkennbar zwischen der Verwendung der SDNR und der relativen SI. Diese Erkenntnis stimmt mit denen von KRUGER et al. (2000) überein, die in ihrer Studie einen deutlichen Unterschied der Werte aus SDNR und SNR beschrieben. Die SNR ist dabei mit der in dieser Arbeit verwendeten relativen SI gleichzusetzen. Ob die Divergenz der Werte der vorliegenden Studie dabei auf die Subtraktion der SI der OBS oder auf die unterschiedlichen Nenner zurückzuführen ist, müsste mittels weiterer Studien überprüft werden. Bei KRUGER et al. (2000) ist in den aufgeführten Erläuterungen nicht eindeutig erkennbar, ob sie die SI oder SD für das Hintergrundsignal zur Berechnung verwendet haben, auf jeden Fall aber beruhen beide Formeln auf demselben Nenner. Dadurch ist ein großer Einfluss der Subtraktion der SI der OBS vorhanden und kann auch für die hier vorliegende Studie vermutet werden.

Die Standardisierung zur Kortikalis unter Verwendung des AVG-Wertes der SI erwies sich statistisch als beste Methode im Vergleich mit der Masson-Trichrom-Färbung. MILNER et al. (2012) bezeichneten diese Standardisierung bereits als präzise, was durch die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse untermauert werden kann, auch wenn sie nur auf die Daten von je einer Gliedmaße der sechs Pferde beruhen. Um die Validität dieser Aussage festzustellen, sollten weitere Versuche mit größeren Tierzahlen gemacht werden.

5.2 Diskussion der unterschiedlich großen ROI für die SI-Messung in der Sehnenläsion

Um die SI einer Läsion zur Beurteilung der Sehnenheilung verwenden zu können, ist es wichtig, dass zu jedem Zeitpunkt miteinander vergleichbare Messwerte erhoben werden. Von den meisten Autoren wird die SI einer Läsion auf deren gesamten Fläche bestimmt (MILNER et al. 2012; SCHRAMME et al. 2010). KARLIN et al. (2011) verwandten eine kleine rechteckige 20mm^2 ROI. Diese definierte Fläche wurde in die Läsion und in den Hintergrund eingefügt, um auf diesen Arealen die SI zu bestimmen. Eine vergleichende Studie zur idealen ROI-Größe lag bisher jedoch noch nicht vor. Um den Einfluss der Flächengröße zu überprüfen wurden in der vorliegenden Arbeit drei Methoden der SI-Bestimmung definiert, die im Synedra angewandt wurden. Die SI einer Läsion wurde auf ihrer gesamten Fläche, auf der Fläche eines größtmöglichen Kreises und auf einer Kreisfläche von 1mm^2 bestimmt. Zur Standardisierung der SI diente die zuvor beschriebene Formel 4 unter Verwendung des AVG-Wertes. Pro Pferd und Zeitpunkt wurde der Mittelwert aus allen SI gebildet. Die so entstandenen drei Werte wurden untereinander statistisch verglichen. Die Pearson Korrelation ergab eine lineare Beziehung aller Wertepaare. Der Wilcoxon-Signed-Ranks-Test ergab für alle Wertepaare und Sequenzen, dass die Zahlenwerte statistisch signifikant voneinander verschieden

sind. Dabei waren die höchsten Werte in den 1 mm²-ROI und die kleinsten Werte innerhalb der gesamten Läsion zu verzeichnen. Diese Differenz der SI ist dem Umstand geschuldet, dass die Sehnenläsionen in ihrem Zentrum die höchste SI aufweisen. Jede Kreis-ROI wurde zentral in der Läsion positioniert, wodurch mit zunehmender Flächengröße mehr Areale des Randbereiches mit geringerer SI im Vergleich zum Zentrum mit eingerechnet wurden.

Das zeigt, dass die Zahlenwerte der unterschiedlich großen Flächen auch bei gleicher Standardisierung nicht miteinander in Beziehung zu setzen sind. Bei der Verfolgung eines Heilungsverlaufes über mehrere Messzeitpunkte ist es demnach wichtig, bei allen Bildern die gleiche Fläche zur SI-Bestimmung einzusetzen. Für die Beurteilung der Heilung ist es nicht relevant, welche Methode eingesetzt wird. Je kleiner man die ROI wählt, desto größer wird der Zahlenwert der SI sein. Die Entwicklung der SI über die Zeit stellt sich jedoch in vergleichbarer Weise dar. Hierbei ist allerdings zuvor zu definieren in welchem Bereich die ROI platziert wird. In den vorliegenden Messungen wurde das Läsionszentrum gewählt. Im Randbereich der Läsion ist die SI oftmals geringer als im Zentrum der Läsion. Platziert man die ROI bei jeder Messung in einem beliebigen Bereich, kann das daher zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Zeit für die Erhebung der SI am MRT-Bild kann mit Hilfe der Kreis-ROI im Synedra-Programm verkürzt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass man nicht jede Läsionsfläche einzeln mit dem Cursor umranden muss, sondern mittels des Kreis-Tools Werte für die SI in kürzester Zeit erhalten kann. Eine solche Messung ist auch besser standardisierbar und wiederholbar als die manuelle Umrandung der gesamten Läsion, da bei zweitgenannter immer eine subjektive Beurteilung der Läsionsgröße zu Grunde liegt. Bei der Wahl der Flächengröße sollte jedoch beachtet werden, dass sehr kleine Kreis-ROI schwieriger zu platzieren sind, da für eine Verlaufskontrolle immer die gleiche Stelle vermessen werden sollte. Mit zunehmender Größe der ROI ist die gemessene SI weniger fehleranfällig durch mehr einfließende Bildpunkte, jedoch darf man die Kreisfläche nicht so groß wählen, dass sie im Verlauf der Heilung nicht mehr in die Läsionsfläche passt.

5.3 Diskussion der unterschiedlichen CSA-Messungen zur Beurteilung des Heilungsverlaufes

Die CSA ist ein viel verwendeter Parameter für die Beurteilung der Sehnenheilung. Einerseits kann die CSA als Fläche innerhalb einer Schnittebene (BERNER et al. 2016; KARJALAINEN et al. 2000; KARLIN et al. 2011; SMITH et al. 2012) oder nach Berechnung unter Einbeziehung mehrerer Schnittebenen als Volumen (MILNER et al. 2012; SCHRAMME et al. 2010; SHALABI et al. 2004) zur Auswertung dienen. Die Erfassung der CSA für jede MRT-Aufnahme ist ein zeitaufwendiger Arbeitsschritt, da die betroffene Fläche manuell mit dem Cursor umrandet werden muss. Daher stellt sich die Frage, ob die Messung der CSA auf jedem Bild des Läsionsbereiches notwendig ist um repräsentative Ergebnisse zu erhalten, oder ob alternativ die CSA in ausgewählten

Schnittebenen bestimmt werden kann. Dazu wurden in der vorliegenden Arbeit zwei Verfahren verwendet, bei denen jeweils nur ein MRT-Bild pro Zeitpunkt die Grundlage für die CSA-Bestimmung darstellte. Bei der ersten der beiden Varianten, die als MAX-CSA bezeichnet wird, wurde zu jeder MRT-Messung die CSA auf der Aufnahme bestimmt, auf der die Läsion die größte Fläche einnahm. Bei dieser Methode wird demnach die Dauer der MRT selbst nicht verkürzt, jedoch ist die Erhebung der Messwerte weniger zeitaufwendig. Die zweite Variante, die als angepasste CSA bezeichnet wird, beruht auf dem Läsionsmaximum des ersten Untersuchungszeitpunktes. Hier wurde die Bildebene mit der größten Läsion bestimmt. Zu den Folgeuntersuchungen wurden dann die CSA-Werte nur dieser einen Ebene für die Auswertung herangezogen. Diese Methode würde es ermöglichen die Dauer der MRT auf ein Minimum zu verkürzen, da nicht der gesamte Läsionsabschnitt zur Beurteilung des Heilungsverlaufes gescannt werden müsste. Für jedes Pferd wurden pro Zeitpunkt daher drei CSA-Werte miteinander verglichen. Diese waren der Mittelwert der CSA der gesamten Läsion, die MAX-CSA und die angepasste CSA. Für alle Wertepaare ergab sich in allen MRT-Sequenzen eine signifikante Korrelation der Daten. Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test ergab jedoch, dass die Zahlenwerte voneinander verschieden sind.

Es ist demnach durchaus möglich, die CSA nur auf einer Ebene pro Zeitpunkt zu beurteilen. Dabei sollte jedoch für die Beurteilung des Heilungsverlaufes zu jedem Zeitpunkt dieselbe Messmethode angewandt werden. Die MAX-CSA ist dabei ein guter Weg bei der Auswertung der Bilder Zeit einzusparen. Vorteile für den Probanden ergeben sich daraus jedoch nicht. Bei der angepassten CSA könnte die Dauer für die MRT deutlich verringert werden. Das würde für die untersuchten Pferde deutlich kürzere Sedationszeiten bedeuten. Diese reduzierte Bildsequenz birgt jedoch auch ihre Risiken. Treten während des Heilungsverlaufes weitere Läsionen oder Heilungsprobleme an einer Stelle der Läsion auf, die zuvor nicht das Maximum darstellte, könnten diese verpasst werden. Es muss daher von einer höheren Fehlerquote ausgegangen werden. Die Untersuchung nur einer Ebene sollte daher nicht als alleiniger Standard über einen längeren Zeitraum eingesetzt werden. Bei Risikopatienten, die beispielsweise sensibel auf Sedation reagieren, könnte sie zur Beurteilung des Heilungsverlaufes eingesetzt werden, jedoch ist zwischendurch ein Scan des gesamten Beines anzuraten.

5.4 Diskussion der Gegenüberstellung der manuellen und automatisierten Messungen

Die Erhebung von Messdaten in MRT-Bildern ist ein zeitaufwendiger Prozess. Programme zur Bildauswertung wie Synedra bieten durch ihre spezialisierte Benutzeroberfläche viele Tools, die die Datenerfassung vereinfachen. Dennoch müssen Bereiche zur Bestimmung der CSA manuell mittels Cursor umrandet werden. Ein zweites Ziel dieser Studie war es daher, zu evaluieren, ob ein wissenschaftliches Algebra-System wie Mathematica Läsionsbereiche ebenso gut ermitteln kann und die

daraus erhobenen Messwerte für die SI der Läsion, der Mittelwert der Läsions-CSA und das Läsionsvolumen mit der Synedra-Messung vergleichbar sind. Dadurch dass sich Sehnenläsionen im MRT-Bild durch eine Erhöhung der SI darstellen (BERNER et al. 2016; KARJALAINEN et al. 2000; KARLIN et al. 2011; KASASHIMA et al. 2002; KING et al. 2013; MILNER et al. 2012; MURRAY et al. 2011; SCHRAMME et al. 2010), ist es prinzipiell möglich, dass ein Programm, dessen Messungen auf die Bewertung von Helligkeitsstufen der Bildpixel beruhen, Läsionsbereiche erkennt. Zur Vergleichbarkeit der manuellen mit der automatisierten Messung in MRT-Bildern sind zuvor noch keine Studien vorgenommen worden.

5.4.1 Automatisierte SI-Bestimmung

Der Vergleich der SI für die Läsionsbereiche wurde auf Grundlage der Standardisierung nach Formel 4 unter Verwendung des AVG-Wertes der gesamten Läsion durchgeführt. Für jedes Pferd wurde pro MRT-Sequenz ein definierter Bereich festgelegt (siehe Tab. 3, Kapitel 3.6.1), aus dessen Messwerten der jeweilige Mittelwert gebildet wurde. Diese wurden statistisch auf ihre Korrelation und mittels des Wilcoxon-Signed-Rank-Tests untersucht. Es ergab sich eine hoch signifikante Korrelation der Messungen. Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test ergab, dass die Zahlenwerte jedoch stark voneinander abweichen. Dabei waren die Messwerte des Mathematica-Programmes im Vergleich zur Synedra-Messung zumeist niedriger. Das könnte daran liegen, dass das Mathematica etwaige Bildartefakte mit zum Läsionsbereich zählt, wodurch falsch Bereiche mit einfließen. Dadurch werden die SI-Durchschnittswerte möglicherweise erniedrigt. Bei dem verwendeten Programm wird der Bereich zur Läsionserkennung zwar manuell konfiguriert im Bezug auf Mindestgröße und Signaldifferenz zum Hintergrund, jedoch gelten diese Einstellungen für alle Bilder einer jeweiligen Sequenz. Artefaktreiche Bilder können daher abweichende Messergebnisse liefern.

Die automatisierte Messung liefert in allen vier verwendeten MRT-Sequenzen verwendbare Daten, die in ihrem Verlauf mit der manuellen Messung im Synedra übereinstimmen. Es ist jedoch nicht möglich die Zahlenwerte untereinander zu vergleichen, weshalb man sich bei der Beurteilung des Heilungsverlaufes für eine Messmethode entscheiden muss. Für die Bestimmung der SI ist die automatisierte Messung mittels Mathematica folglich sehr gut einsetzbar. Damit ist es möglich MRT-Bilder objektiv auszuwerten. Der Einfluss des Untersuchers bedingt durch seine Erfahrung, technische Ausstattung und subjektive Einschätzung wird dadurch unterbunden. So wäre es auch möglich Studienergebnisse unterschiedlicher Forschungsgruppen miteinander zu vergleichen. Außerdem könnte im Rahmen von Studien die mehrmalige Messung der einzelnen Werte entfallen, die aufgrund der Fehleranfälligkeit der manuellen Messung bisher unabdingbar ist.

5.4.2 Automatisierte CSA-Bestimmung

Für den Vergleich der beiden Programme in Bezug auf die CSA-Bestimmung wurde der Mittelwert der CSA der Läsion innerhalb des zuvor definierten Bildbereiches pro MRT-Sequenz eingesetzt. Hierbei stellten sich die Ergebnisse ähnlich denen für die SI (siehe Kapitel 5.4.1) dar. Die Korrelation der Messwerte konnte für alle Sequenzen mit hoher Signifikanz als sehr gut bewertet werden. Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test zeigte jedoch wiederum, dass die Zahlenwerte der beiden Programme nicht übereinstimmen. Mathematica wies hier zu circa 75 % kleinere CSA-Werte auf als Synedra. Ein Faktor, der die Größe der Läsionsfläche in der Synedra-Messung beeinflusst, ist der Untersucher. Durch subjektive Einschätzung entstehen unterschiedliche Messwerte bei verschiedenen Betrachtern. Mathematica hingegen bewertet objektiv nach Helligkeit. Ein Nachteil dieser zwar objektiven, aber dadurch unflexiblen Einschätzung, ist bei MRT-Bildern mit Artefakten gegeben. Etwaige Erhöhungen der SI bei Bewegungsartefakten werden bei entsprechender Flächengröße ebenfalls als Läsionsbereich angesehen und der CSA hinzugerechnet (siehe Abb. 28 und 29, Kapitel 5.4.2). Dadurch entstehen fälschlicher Weise zu hohe CSA-Werte. In der vorliegenden Studie betraf das vor allem die STIR-Sequenzen, die durch Unschärfe fragliche Läsionsbereiche im Mathematica erhielten. Durch die Visualisierung der Daten des Programmes als Tabelle, Diagramm und im Bild, sind diese Abweichungen bei Kontrolle der Bilder aber leicht aufzuspüren.

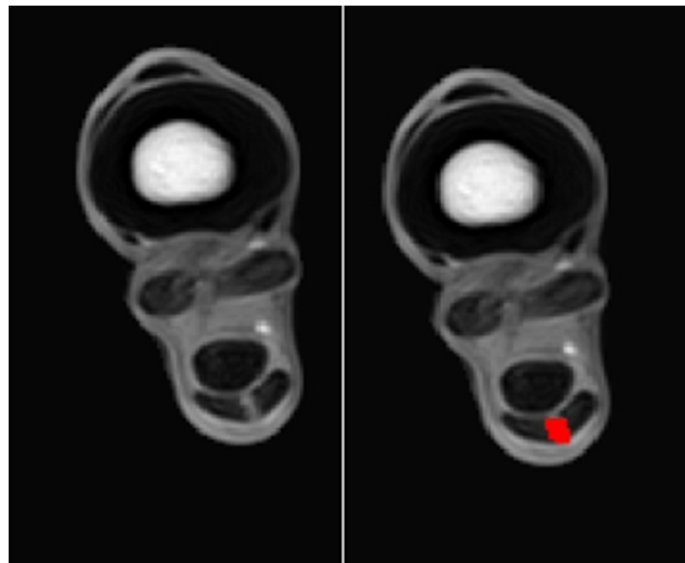


Abb. 28: MRT-Aufnahme T_1 -Sequenz; Links: Sehnenläsion in OBS als heller Bereich zu erkennen; Rechts: in rot der von Mathematica definierte Läsionsbereich

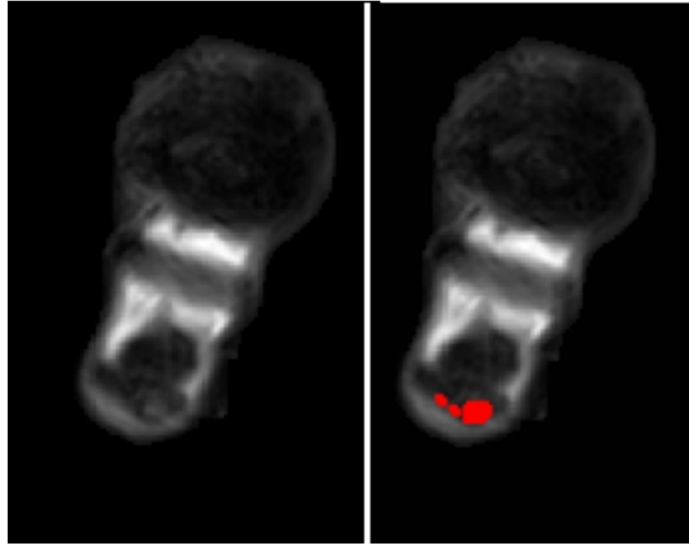


Abb. 29: MRT-Aufnahme STIR-Sequenz; Links: Sehnenläsion in OBS als heller Bereich zu erkennen; Rechts: in rot der von Mathematica definierte Läsionsbereich (großes Areal entspricht Läsion, die beiden kleineren Areale sind artefaktbedingt)

Diese Gegenüberstellung der manuellen und automatisierten Messung der CSA der Läsion zeigt, dass eine Automatisierung prinzipiell möglich ist. Zur Beurteilung des Verlaufes der Sehnenheilung ist es allerdings wichtig, zu jedem Zeitpunkt die gleiche Messmethode anzuwenden. Außerdem können bei Bildern, die reich an Artefakten sind, im Mathematica falsche Messwerte entstehen, da das Programm keine Bewertung der Bildqualität durchführen kann. Beim Einsatz von Mathematica ist es daher unerlässlich alle Aufnahmen zuvor auf ihre Verwendbarkeit zu überprüfen und im Nachhinein die ausgegebenen Messwerte kritisch zu überprüfen.

5.4.3 Automatisierte Bestimmung des Läsionsvolumens

Die Bestimmung des Läsionsvolumens basiert auf der Messung der CSA der Läsion und den Parametern für Schichtdicke und Bildlücke der MRT. Auf Grundlage dieser Werte wurde das Läsionsvolumen innerhalb definierter Sehnenbereiche (siehe Kapitel 3.6.1.2) zu jedem Zeitpunkt für Synedra und Mathematica ermittelt.

Viele Studien verwenden an Stelle der CSA das Läsionsvolumen (MILNER et al. 2012; SCHRAMME et al. 2010; SHALABI et al. 2004) als Parameter für die Beurteilung der Sehnenheilung. Dafür muss an allen Bildern des Läsionsbereiches eine Messung der CSA durchgeführt werden. Wie schon mehrfach erwähnt, ist das ein zeitaufwendiger Prozess. Die Automatisierung dessen wäre demnach ein nützliches Instrument für radiologische Untersuchungen und Studien.

Da die Berechnung des Volumens auf der ermittelten CSA der Läsion beruht, ist es naheliegend, dass die statistische Korrelation der CSA-Messungen auch auf die Volumenbestimmung zutrifft. So ergab die Auswertung auch hier eine lineare Abhängigkeit der Messwerte der beiden Programme. Im Wilcoxon-Signed-Rank-Test stellten sich die Zahlenwerte wieder signifikant verschieden voneinander dar, wobei die

Volumina der Mathematica-Messung zumeist niedriger als die der Synedra-Messung waren. Die möglichen Fehlerquellen beider Methoden wurden bereits in Kapitel 5.4.2 für die CSA-Bestimmung besprochen. Da die Bestimmung des Volumens auf die CSA beruht, sind hier dieselben Einflüsse zu vermuten. Im Vergleich mit den Ergebnissen von SCHRAMME et al. (2010) konnte für das Läsionsvolumen ein ähnlicher Zeitverlauf wie bei seinen Ultraschallmessungen gezeigt werden. In beiden Studien ist 6 Wochen post operationem das Maximum der Volumenmessung erreicht.

Die automatisierte Messung der CSA und das daraus errechnete Läsionsvolumen erwiesen sich als gut vergleichbare Methoden zur manuellen Messung im Synedra. Mit Hilfe der Automatisierung könnte daher eine Zeitersparnis für die Bildbewertung geschaffen werden. Die ausgegebenen Daten sind jedoch nur für qualitativ gute MRT-Bilder verwendbar und sollten einer nachträglichen Kontrolle unterzogen werden. Um den Heilungsverlauf einer Sehnenverletzung zu beurteilen muss zu jedem Zeitpunkt dieselbe Messmethode angewandt werden, da die erhobenen Zahlenwerte verschieden sind und somit nur innerhalb eines Programmes vergleichbar.

Prinzipiell ist das Läsionsvolumen ein verwendbarer Parameter für die Beurteilung des Heilungsverlaufes (MILNER et al. 2012; SCHRAMME et al. 2010; SHALABI et al. 2004). Die CSA der Sehnenläsion ist jedoch ebenso gut einsetzbar, wie die Ergebnisse dieser Studie zeigen. Die Berechnung des Volumens ist daher eine Verrechnung von Werten, die vor allem Fehlerquellen birgt. Bei einem nicht auswertbaren Bild, zum Beispiel durch Artefakte bedingt, muss dieser Wert durch einen fiktiven Wert ersetzt werden. In der vorliegenden Studie geschah das durch die Duplizierung des CSA-Wertes des proximal angrenzenden Bildes. Andere Autoren machten dazu keine Angaben. Bei der Errechnung eines Durchschnittswertes wie bei der MW-CSA ist es nicht nötig fehlende Bilder zu ersetzen, was die Ermittlung vereinfacht. Im Gegensatz zu Einzelwertbestimmungen wie der MAX-CSA ist es jedoch bei der Bestimmung des Läsionsvolumens nicht so gravierend, wenn ein Bild nicht auswertbar ist.

5.5 Diskussion der Eignung von Ultraschall und verschiedener MRT-Sequenzen für Diagnose und Verlaufskontrollen von Sehnenläsionen

Für die Diagnose von Sehnenerkrankungen und die Beurteilung des Heilungsverlaufes werden seit Jahren MRT- und Ultraschall-Untersuchungen eingesetzt. Während viele Studien nur auf einer Untersuchungsmethode beruhen, gibt es einige Untersuchungen zur Korrelation der Daten aus MRT und Sonographie. So beschrieben CRASS et al. bereits 1992, dass die von ihnen angefertigten T_1 - und T_2 -Sequenzen über einen Verlauf von 7 Wochen gut mit den dazugehörigen Ultraschallbildern korrelieren. Lediglich 5 Wochen nach dem Setzen der Läsion weichen die Werte der beiden bildgebenden Verfahren voneinander ab. KARLIN et al. (2011) fertigten zusätzlich zur T_1 - und T_2 -Sequenz auch noch eine STIR-Sequenz an und verglichen diese mit den Werten der Ultraschall-Untersuchung. Sie stellen für beide Verfahren eine maximale CSA der

Läsion vier Wochen nach der Kollagenase-Applikation fest. Im Vergleich der Flächenwerte lieferten die Ultraschall-Aufnahmen jedoch deutlich geringere Werte.

In dieser Arbeit wurden die maximalen CSA-Werte der Läsion zu jedem Zeitpunkt von Ultraschall und allen vier MRT-Sequenzen miteinander verglichen. Dabei ergab sich eine schlechte Übereinstimmung der Werte für die STIR- und T_2^* -Sequenz im Vergleich zum Ultraschall. Eine als signifikant anzusehende Korrelation ergab sich beim Vergleich von Ultraschall mit der T_1 - und T_2 -Sequenz. Der Wilcoxon-Signed-Rank-Test ergab für alle vier Sequenzen, dass die Werte signifikant verschieden voneinander sind. Diese Ergebnisse entsprechen denen von CRASS et al. (1992). Vergleichbar mit der Arbeit von KARLIN et al. (2011) waren auch in der vorliegenden Studie die CSA-Werte der Sonographie deutlich geringer gegenüber denen der MRT. Die schlechte Korrelation mit der STIR-Sequenz in unseren Untersuchungen kann darin begründet liegen, dass für die späten Zeitpunkte vergleichsweise wenige Werte zur Verfügung standen aufgrund von schlechter Bildqualität. Die dadurch erfassten Maximalwerte sind möglicherweise nicht repräsentativ für die tatsächliche Läsion zu diesem Zeitpunkt. Hier ist ein deutlicher Anstieg der CSA der Läsion 8 Wochen post applicationem zu verzeichnen. Eine etwas geringere aber ähnliche Tendenz zeigt sich in der T_2^* -Sequenz 6 Wochen post applicationem. Bei Betrachtung der Aufnahmen ist dabei auffällig, dass viele von ihnen Artefakte aufweisen, die die Erfassung der Läsionsgröße negativ beeinflusst haben könnten. Trotz dreimaliger verblindeter Messung sind solche Einflüsse nicht auszuklammern. Für die CSA aus Ultraschall und T_2 -Sequenz zeigt sich ein annähernd ähnlicher Verlauf über die gesamte Untersuchungszeit. Die T_1 - und T_2^* -Sequenz unterscheiden sich durch ein nicht so deutliches Absinken der CSA-Werte zum Ende der Untersuchungszeit. Bei SCHRAMME et al. (2010) fällt die CSA in der T_2 -Sequenz viel schneller als im Ultraschall ab, jedoch ist in dieser Studie 12 Wochen nach der Läsionsinduktion kein Signal mehr in den T_2 gewichteten Bildern zu verzeichnen. Das kann an den unterschiedlichen Einstellungen für die Sequenzen liegen. SCHRAMME et al. (2010) wählten eine deutlich längere TR (6590 ms) und einen Flip Winkel von 180° . Diese Parameter haben deutlichen Einfluss auf den Kontrast im entstehenden Bild. In ihren Ultraschalluntersuchungen ermittelten sie jedoch über den gesamten Untersuchungszeitraum von 12 Wochen ein stabiles Läsionsvolumen mit einem kleinen Peak acht Wochen nach dem Setzen der Läsion. Diese Ergebnisse des Ultraschalls sind somit vergleichbar mit denen der vorliegenden Arbeit.

Die Ultraschalluntersuchung an sich ist jedoch sehr störanfällig. Den größten Einfluss haben hierbei wohl der Untersucher und seine Schalltechnik. Doch auch bei korrekter Anwendung der Scantechnik nach RANTANEN et al. (2011) kann eine Höhendifferenz von wenigen Millimetern, oder ein Schallwinkel von nicht exakt 90° Abweichungen in der Darstellung der Sehnenläsion bewirken (RANTANEN et al. 2011). Desweiteren erzeugen MRT und Ultraschall ihre Bilder auf unterschiedlichen Wegen. Während T_2 -gewichtete MRT-Aufnahmen Flüssigkeiten mit hoher SI darstellen, zeigen T_1 -gewichtete MRT- und Ultraschallbilder Faserstrukturen mit höherer SI (SCHILD 1997; RANTANEN et al. 2011). Im Ultraschall werden hingegen akute Läsionen durch den

erhöhten Flüssigkeitsgehalt hypoechogen und chronische Läsionen durch gröbere Faserstrukturen hyperechogen im Vergleich zur gesunden Sehne dargestellt. Das könnte der Grund dafür sein, dass in dieser Studie bei der Messung anhand der Ultraschallbilder die CSA ein Maximum eine Woche post applicationem und ein weiteres acht Wochen post applicationem aufweist. Bei erstgenanntem stellt sich die Läsion deutlich hypoechogen dar bedingt durch die Einlagerung von Flüssigkeit in der inflammatorischen Phase. Die darauf folgende Proliferationsphase bringt eine Synthese von neuen Kollagenfasern bei weiter erhöhtem Flüssigkeitsgehalt hinzu. Zu dieser Zeit kann es schwierig sein die Läsion eindeutig abzugrenzen. In der anschließenden Remodellingphase entwickelt sich die Sehnenläsion hyperechogen, da die Wasserbindungskapazität des Gewebes abnimmt und die Bildung von festem Narbengewebe beginnt. Der erneute Peak 8 Wochen post applicationem könnte daher dem geschuldet sein, dass das Narbengewebe deutlicher als Läsionsbereich sichtbar ist, als es in der Proliferationsphase der Fall war.

Die vorliegende Studie konnte somit die Ergebnisse von CRASS et al. (1992) und KARLIN et al (2011) für die T_1 - und T_2 -Sequenz im Vergleich zum Ultraschall belegen und untermauern. Um zu überprüfen, ob die schlechtere Korrelation von Ultraschall und T_2^* - beziehungsweise STIR-Sequenz nur aufgrund der schlechteren Bildqualität zustande gekommen ist, wären weitere Untersuchungen mit qualitativ sehr guten Bildern und einer größeren Anzahl an Bildern nötig.

5.6 Diskussion der Gegenüberstellung der MRT-Sequenzen

Die Frage nach der besten MRT-Sequenz um den Verlauf der Sehnenheilung zu verfolgen wurde bereits in sehr vielen Studien untersucht und versucht zu beantworten. Von den meisten Wissenschaftlern wurden dabei T_1 - und T_2 -Sequenzen miteinander verglichen (BERNER et al. 2016; CRASS et al. 1992; KARLIN et al. 2011; KASASHIMA et al. 2002; KING et al. 2013; SHALABI et al. 2004; SCHRAMME et al. 2010). BERNER et al. (2016), KARLIN et al. (2011), KING et al (2013) und SCHRAMME et al (2010) fertigten zusätzlich STIR-Sequenzen und BERNER et al (2016) und KING et al (2013) auch eine T_2^* -Sequenz an. Als sichere Erkenntnis all dieser Studien kann man feststellen, dass eine akute Sehnenläsion in der MRT immer mit einer Erhöhung der SI einhergeht. Dabei bleibt das Signal in der T_1 -Sequenz länger hoch, wodurch die T_2 -Sequenz allein im chronischen Stadium falsch negative Ergebnisse erbringen kann. Außerdem sind die SI-Werte der T_1 -Sequenz bei vielen Untersuchungen größer als die der T_2 -Sequenz (KARLIN et al. 2011; KASASHIMA et al 2002). Bei SCHRAMME et al (2010) ist 12 Wochen nach dem Setzen der Läsion in der T_2 -Sequenz kein Anzeichen mehr zu erkennen. Auch BERNER et al. (2016) beschreibt eine deutliche Reduktion der Läsionsfläche in der T_2 -Sequenz noch bevor ähnliche Tendenzen in der T_1 -, T_2^* - oder STIR-Sequenz zu erkennen sind.

Für die Evaluierung der MRT-Sequenzen über den Zeitverlauf von 24 Wochen nach der Injektion von Serum wurden in dieser Studie die Parameter SI, der Mittelwert der CSA der Läsion und das Läsionsvolumen verwendet. Der Diskussion liegt eine rein deskriptive Auswertung der Parameter im Zeitverlauf zu Grunde, da bei der hier vorliegenden Fragestellung die Bestimmung der Korrelation der Daten untereinander nicht zielführend ist. Es wurde der graphische Verlauf einer jeden MRT-Sequenz im Bezug auf den Median bewertet und so eine Beurteilung für deren Aussagekraft während des Heilungsverlaufes vorgenommen.

5.6.1 Diskussion der SI der Läsion

Zum Vergleich der MRT-Sequenzen untereinander wurden die SI der Läsionsbereiche nach Formel 4 standardisiert und daraus für jede Sequenz und jeden Zeitpunkt der Mittelwert ermittelt. Dadurch standen für den Zeitverlauf jeweils maximal 6 Werte gleichzeitig zur Verfügung. Aufgrund schlechter Bildqualitäten konnten für einige Probanden zu manchen Zeitpunkten keine Daten ermittelt werden. Vorrangig betrifft das die STIR-Sequenz, bei der zuweilen lediglich Proband 6 zur Auswertung dienen konnte.

Für den Verlauf der SI in den einzelnen Sequenzen lässt sich für T_1 -gewichtete Bilder ein Absinken der SI 4 Wochen post applicationem feststellen. Bei der T_2 -Sequenz ist das bereits eine Woche post applicationem und in der T_2^* -Sequenz 2 Wochen post applicationem festzustellen. In der T_2^* -Sequenz ist außerdem ein erneuter Peak 4 Wochen post applicationem zu beobachten. Für die STIR-Sequenz kann lediglich für Proband 6 eine Erhöhung des Signals nach der Applikation des Serums festgestellt werden. Danach folgt ein deutlicher Abfall. Prinzipiell sind auch in unserer Studie die SI der T_1 -Sequenz am höchsten, wie bereits von KARLIN et al (2011) und KASASHIMA et al. (2002) beschrieben. In der Rangierung folgt daraufhin die T_2^* - und dann die T_2 -Sequenz.

Vergleichend betrachtet kann man somit feststellen, dass das Signal in der T_2 -Sequenz deutlich schneller abfällt, als in der T_2^* - und erst recht in der T_1 -Sequenz. Das liegt darin begründet, dass in der Remodellingphase der Sehnenheilungen der Wassergehalt des Gewebes zugunsten des Fasergehaltes abnimmt. In der T_2 -Sequenz bedingt ein erhöhter Flüssigkeitsgehalt einen Anstieg der SI. Somit wird für chronische Läsionen in T_2 gewichteten Bildern ein geringeres und in T_1 gewichteten Bildern ein deutlicheres Signal detektiert (HÜGLE et al. 2012; MÖLLER et al. 2000; NOWOTNY et al. 2015; SHARMA et al. 2006). Eine Sehnenläsion ist demnach in der T_1 -Sequenz am längsten gut sichtbar, weshalb diese Sequenz sich besser als die anderen untersuchten für chronische Prozesse eignet (BERNER et al. 2016; KARJALAINEN et al. 2000; KARLIN et al. 2011; KASASHIMA et al. 2002; MURRAY et al. 2011). Außerdem ist die SI zu jedem Zeitpunkt vergleichsweise höher, was in der kurzen TE begründet ist. Dadurch ist der Kontrast zwischen Sehnenläsion und umliegendem Gewebe größer, wodurch die Detektion kleiner Läsionen erleichtert wird. Für die Einsetzbarkeit der STIR-Sequenz

kann aufgrund der Daten zur vorliegenden Arbeit keine abschließende Bewertung vorgenommen werden. Dazu müssten weitere Versuche gemacht werden. Durch die Anfälligkeit für Bewegungsartefakte der STIR-Sequenz vor allem im Low Field MRT waren sehr viele Bilder nicht auswertbar. KARLIN et al. (2011) beschrieb seine Ergebnisse der STIR-Sequenz als vergleichbar mit denen der T_1 -Sequenz.

Für die Beurteilung des Heilungsverlaufes von Sehnenläsionen ist die T_1 -Sequenz als langfristige Verfolgung sehr gut geeignet. Zur Einordnung des Alters der Läsion ist jedoch eine Gegenüberstellung der Werte aus T_1 - und T_2 -Sequenzen nützlich.

5.6.2 CSA der Läsion im Heilungsverlauf

Die Messung der CSA dient zur Bestimmung des Ausmaßes der Läsion über den Heilungsverlauf und ist Grundlage für die Berechnung des Läsionsvolumens. Für den Vergleich der verschiedenen MRT-Sequenzen untereinander wurde innerhalb eines definierten Beinabschnittes pro Pferd und Zeitpunkt ein Mittelwert aller erfassten CSA der Läsion errechnet. Für die T_1 -Sequenz kann ein Maximalwert der CSA 2 Wochen post applicationem festgestellt werden. Die darauf folgende Reduktion wird lediglich durch einen erneuten Peak 8 Wochen post applicationem unterbrochen. Die Zeit zwischen beiden Peaks fasst den Bereich der Proliferationsphase ein, in der die Wasserbindungskapazität des Gewebes erhöht ist (BOSCH et al. 2011; CRASS et al. 1992; HÜGLE et al. 2012; NOWOTNY et al. 2015; VAN SCHIE et al. 2009), was eine erhöhte SI in der T_2 -Sequenz bedingt (SCHILD 1997). In der T_2 -Sequenz ist ein Plateau in der Synedra-Messung ein bis sechs Wochen post applicationem erkennbar. Die T_2^* -Sequenz ähnelt in ihrem Verlauf dem der T_1 -Sequenz. In der STIR-Sequenz kann nur Proband 6 über alle Zeitpunkte verfolgt werden. Hier sind mehrere Peaks zu verzeichnen. Das erste Hoch ergibt sich 2 Wochen post applicationem. Bei dem zweiten Hoch 6 bis 8 Wochen post applicationem und einem dritten 24 Wochen post applicationem ist die CSA sogar noch größer als zuvor.

Die T_1 - und T_2^* -Sequenz liefern in der vorliegenden Arbeit miteinander vergleichbare Daten. Die CSA der T_2 -Sequenz sind im Vergleich dazu wesentlich geringer. Der Unterschied der Mediane nimmt mit fortschreitendem Heilungsverlauf zu. Das stimmt mit den Ergebnissen von SCHRAMME et al. (2010) überein. Dort wurde über einen Verlauf von 12 Wochen nach dem Setzen einer chirurgischen Läsion festgestellt, dass die CSA der Läsion in der T_2 -Sequenz schneller abnimmt als in T_1 - und FLASH-Sequenzen und nach 12 Wochen sogar keine Läsion mehr messbar ist. Ähnliche Beobachtungen machten KARJALAINEN et al. (2000) im Vergleich der T_2 - mit der STIR-Sequenz. Das zeitigere Verschwinden der Läsion in dieser Sequenz steht vermutlich im Zusammenhang mit der geringeren SI und auch dem zeitigen Absinken der SI im Vergleich zu den anderen MRT-Sequenzen der hier vorliegenden Studie. Denn für die Detektion einer Läsionsfläche bedarf es eines Signalunterschiedes zum gesunden Sehngewebe. Durch den sinkenden Wassergehalt des Gewebes im Verlauf der Heilung nimmt das Signal der Läsion in der T_2 -Sequenz deutlich ab. Für die STIR-Sequenz ist

aufgrund der wenigen Daten eine Bewertung nicht aussagekräftig. Vergleicht man nur die Werte des Probanden 6, von dem zu allen Zeitpunkten STIR-Bilder vorliegen, lässt sich feststellen, dass die gemessenen CSA durchgängig 10 bis 20 mm² niedriger sind, als die der T₁-Sequenz. In ihrem Verlauf ähnelt sie jedoch der T₁- und T₂*-Sequenz.

Für akute Sehnenläsionen liefern alle Sequenzen dieser Studie sehr gute Ergebnisse im Bezug auf die CSA. Für sehr kleine Läsionen könnte es vorteilhaft sein T₁- oder T₂*-Sequenzen einzusetzen, da hier die CSA am größten erscheint. Um das Alter einer Läsion zu beurteilen ist wiederum der Vergleich von T₁- und T₂-Aufnahmen nützlich. Über die Einsetzbarkeit von STIR-Sequenzen kann hier keine abschließende Aussage getroffen werden. Dazu sind weitere Untersuchungen mit größeren Bildzahlen nötig.

5.6.3 Läsionsvolumen im Heilungsverlauf

Auf Grundlage der CSA-Messungen wurde für jedes Pferd zu jedem Zeitpunkt das Volumen der Läsion innerhalb eines definierten Beinabschnittes bestimmt. Die Berechnung erfolgte mittels der unter Kapitel 3.6.1.2 beschriebenen Volumenformel. Für die T₁-Sequenz ist ein plateauartiger Verlauf 3 bis 8 Wochen post applicationem im Synedra festzustellen. In der T₂-Sequenz ist über den Zeitverlauf kein so deutlicher Volumenanstieg zu verzeichnen. Drei Wochen post applicationem ist ein Maximalwert erreicht. Das Maximum der T₂*-Sequenz findet 2 Wochen post applicationem statt. Danach fällt das Läsionsvolumen langsam aber stetig ab. Für die STIR-Sequenz ist das Volumen ebenfalls mit den Ergebnissen für die CSA zu vergleichen. Es werden für Proband 6 mehrere Peaks erreicht, die 2, 6 und 24 Wochen post applicationem liegen. MILNER et al. (2012) beschrieben die T₂*-Sequenz als am besten geeignet für die CSA- und Volumenbestimmung, was mit der längeren TE bei kürzerer TR im Vergleich zu anderen Sequenzen begründet wird. Die Messzeitpunkte wiesen allerdings mit Intervallen von drei Monaten große Zeiträume auf, wodurch ein Vergleich mit den Zeitverläufen der vorliegenden Arbeit nur bedingt möglich ist.

Für die Beurteilung der Sehnenheilung ist auf Grundlage der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit allerdings festzustellen, dass zu Beginn alle Sequenzen gute Ergebnisse liefern und im Verlauf der Heilung die T₂-Sequenz als erste der angefertigten MRT-Sequenzen geringere Werte aufweist. Daher ist auch hier die Erkenntnis zu gewinnen, dass akute Läsionen in allen Sequenzen gut detektiert werden können. Ältere Sehnenbeschädigungen sind in der T₁- und T₂*-Sequenz deutlich besser und länger als in der T₂-Sequenz darstellbar. Für Schäden unbekannten Alters kann daher ein Vergleich dieser Sequenzen nützlich sein. Die STIR-Sequenz ist auch für diesen Parameter nicht abschließend bewertbar. Es müssen weitere Untersuchungen mit größeren Bildzahlen folgen.

5.7 Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurden verschiedene Bildparameter, Bildgebungsverfahren und Messprogramme verglichen. Die statistisch signifikanten Kernaussagen lauten im Hinblick auf die eingangs gestellten Fragen wie folgt:

- Welche Berechnungsformel und Referenzmessung sollten zur Standardisierung der SI einer Sehnenläsion im MRT-Bild herangezogen werden, um eine bestmögliche Korrelation der Ergebnisse mit entsprechenden histologischen Ergebnissen zu erhalten?
 - Zur Standardisierung der SI einer Sehnenläsion sollte die relative SI als Quotient aus SI der Läsion und SI der Kortikalis verwendet werden.
- Wie sollte die ROI, innerhalb derer die SI einer Sehnenläsion im MRT bestimmt wird, definiert werden, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten?
 - Standardisierte Kreis-ROI liefern bei der Messung der SI zuverlässige Werte. Es sollten jedoch zu große und zu kleine ROI vermieden werden.
- Ergibt die Messung der CSA der Sehnenläsion im Läsionsmaximum Ergebnisse, die repräsentativ sind für die gesamte Sehnenläsion?
 - Für die Beurteilung der CSA einer Läsion sind sowohl der Mittelwert aus allen Schnittebenen, der Maximalwert aus allen Schnittebenen als auch der Wert aus der Ebene mit der initial maximalen CSA geeignet. Die Zeit für die MRT und auch die Bildauswertung kann somit erheblich verkürzt werden. Es ist jedoch nicht ratsam den gesamten Heilungsverlauf über nur eine Ebene zu betrachten, um auftretende Komplikationen in anderen Bereichen nicht zu übersehen.
- Ist es möglich die Messungen der SI, der CSA der Läsion und dem daraus resultierenden Läsionsvolumen im MRT-Bild automatisiert mittels eines wissenschaftlichen Algebra-Systems (Mathematica Software) durchzuführen?
 - Die automatisierte Messung der genannten Parameter ist mittels der Mathematica-Software sehr gut möglich. Eine kritische Prüfung der Daten vor allem bei artefaktreichen Bildern ist jedoch anzuraten.
- Welche der verwendeten Untersuchungsmethoden (Ultraschall, MRT-Sequenzen: T_1 , T_2 , T_2^* und STIR) eignen sich besser für die Diagnose einer Sehnenläsion und die Beurteilung deren Heilungsverlaufes?
 - Für die Diagnose akuter Läsionen sind alle Untersuchungsmethoden sehr gut einsetzbar. Am deutlichsten sind die Signale in der T_1 - und T_2^* -Sequenz. Im Heilungsverlauf lässt das Signal im Ultraschall und in der T_2 -Sequenz noch vor Abschluss der Heilung nach. Eine Kombination der unterschiedlichen

Untersuchungsmethoden ist demnach der sicherste Weg zur Diagnose. Für Langzeitkontrollen eignen sich T_1 - und T_2^* -Sequenzen am besten.

Für alle vorangegangenen Aussagen gilt, dass für eine Beurteilung des Heilungsverlaufes immer dieselbe Messmethode zu jedem Untersuchungszeitpunkt angewandt werden muss, da die Zahlenwerte untereinander nicht vergleichbar sind.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Bohner, Melanie

Vergleichende Analyse verschiedener quantitativer Auswertungsverfahren zur Beurteilung der Sehnenheilung des Pferdes in Magnetresonanztomographie und Ultraschall

Klinik für Pferde der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im November 2018

75 Seiten, 29 Abbildungen, 10 Tabellen, 45 Literaturangaben, 49 Anhänge

Schlüsselwörter: Pferd, Magnetresonanztomographie, Sehnenheilung, Ultraschall

Sehnenerkrankungen sind ein häufiges Problem bei Sportpferden und oft der Grund für das Ausscheiden aus dem aktiven Renn- und Turniersport. In den vergangenen Jahren wurde viel Forschung betrieben um die adäquate Heilung zu unterstützen. Zur Evaluierung neuer Therapiemethoden basierend auf Ultraschall und der Magnetresonanztomographie (MRT) werden verschiedene Parameter und Bildgebungs- und Auswertungsverfahren eingesetzt. Die Vergleichbarkeit der verschiedenen Studien ist dabei fraglich. Des Weiteren wurde vor einigen Jahren mit der Entwicklung des Hallmarq Equine Limb Scanner® die MRT des Pferdebeines erleichtert. Sowohl das Scannen eines Beines in mehreren Sequenzen als auch die Auswertung der gewonnenen Bildserien bleiben jedoch zeitintensiv. Ziel der vorliegenden Studie war es zu beurteilen, welche Vorgehensweisen bei Bildgebung und Auswertung sich am besten für die Diagnose und Beurteilung des Heilungsverlaufes von Sehnenläsionen eignen, im Hinblick auf ihre Aussagekraft wie auch Zeiteffizienz.

Von März 2014 bis März 2015 wurde an der Chirurgischen Tierklinik Leipzig eine Studie zur Sehnenheilung der oberflächlichen Beugesehnen des Pferdes durchgeführt (TVV 34/13). Dazu wurden bei sechs Pferden Sehnenläsionen mittels einer Kombination aus chirurgischem Verfahren und Kollagenase-Applikation erzeugt. Nach drei Wochen wurden die Läsionen durch lokale Injektion behandelt, wobei bei den in dieser Arbeit berücksichtigten Sehnenläsionen der Vordergliedmaßen 1ml autologes Serum injiziert wurde. Über 24 Wochen wurden zu 10 Zeitpunkten Niederfeld-MRT- und zu 9 Zeitpunkten Ultraschallaufnahmen angefertigt. Für die MRT wurden dabei T₁-, T₂-, T₂*- und STIR-Sequenzen verwendet. Am Ende des Untersuchungszeitraumes wurden die Tiere fachgerecht euthanasiert und die Sehnen für die Histologie entnommen. Als Färbemethoden kamen hierbei Hämatoxylin-Eosin und Masson-Trichrom zum Einsatz. Es standen 486 Bilder aus der Sonographie und 4790 Bilder aus der MRT zur Verfügung.

Diese Bildserien wurden in der vorliegenden Arbeit mittels Synedra-Software (Synedra AIM) manuell ausgewertet. Dabei wurden verschiedene Herangehensweisen für die Bestimmung und Standardisierung der Signalintensität (SI) der Sehnenläsion, die Messung der cross sectional area (CSA) der Sehnenläsion und des Läsionsvolumens herangezogen. Für die Beurteilung der Standardisierung der SI dienten die Ergebnisse der Histologie als Goldstandard. Zudem wurde eine automatisierte Datenerhebung mittels des Algebra-Systems

Mathematica (Wolfram Research Inc.) durchgeführt und mit der manuellen Messung im Synedra-Programm verglichen. Abschließend wurde die Darstellung der Sehnenläsionen im zeitlichen Verlauf in Ultraschall und verschiedenen MRT-Sequenzen beurteilt.

Für die Standardisierung der SI der Sehnenläsion erwies sich als Referenz die Kortikalis des Röhrrbeines als am besten geeignet. Die auf Basis der Formel: $relative\ SI = SI\ (Läsion) / SI\ (Kortikalis)$ berechneten SI korrelieren mit den Ergebnissen der Histologie ($p < 0,05$). Darauf basierend wurde der Einfluss der region of interest (ROI), in der man die SI der Läsion ermittelt, evaluiert. Dabei wurde die SI für die gesamte Fläche der Läsion, für eine größtmögliche Kreis-ROI und für eine Kreis-ROI von 1mm^2 ermittelt. Die erhobenen Messwerte aller ROI korrelieren signifikant miteinander. Hinsichtlich der CSA wurde zum einen der Mittelwert aller CSA einer Bildserie pro Gliedmaße und Zeitpunkt berechnet. Zum anderen wurde pro Zeitpunkt die maximale CSA erfasst, beziehungsweise nach Ermittlung der maximalen CSA zum ersten Untersuchungszeitpunkt zu jedem weiteren Zeitpunkt der Wert in dieser Ebene bestimmt. Auch diese Methoden zeigten eine sehr gute Korrelation untereinander ($p < 0,05$). Der Einsatz der automatisierten Messung mittels Mathematica wurde anhand der Parameter SI, CSA und Läsionsvolumen überprüft und erwies sich als praktikabel. Die vom Programm ermittelten Werte korrelierten mit denen aus der manuellen Synedra-Messung ($p < 0,05$). Alle bisher genannten Ergebnisse wurden zusätzlich mit dem Wilcoxon-Signed-Rank-Test auf die Vergleichbarkeit der mittels verschiedenen Ansätzen gewonnenen Zahlenwerte überprüft. Für alle Wertepaare ergab sich hierbei, dass sie signifikant voneinander verschieden sind ($p < 0,05$). Zum Vergleich der bildgebenden Verfahren wurden die CSA-Messungen der Ultraschallbilder denen der vier MRT-Sequenzen gegenüber gestellt. Die MRT-Sequenzen wurden zudem anhand der SI und des Läsionsvolumens beurteilt. Dabei wurde jeweils der Verlauf eines Parameters über den Heilungsverlauf hinweg betrachtet. Der Ultraschall korrelierte dabei lediglich mit der T_2 -Sequenz ($p < 0,05$). Beide wiesen ein rasches Absinken der CSA-Messwerte auf. Bei den MRT-Sequenzen weisen die T_1 - und die T_2^* -Sequenz ähnliche Zeitverläufe auf. Sowohl SI auch als CSA sinken im Vergleich zur T_2 -Sequenz später ab. Für die STIR-Sequenz konnten keine validen Ergebnisse ermittelt werden, da diese Sequenz zu viele Aufnahmen mit Artefakten lieferte, sodass die Anzahl der auswertbaren Bilder nicht repräsentativ war.

Demnach zeigen die vorliegenden Untersuchungen dass zur Standardisierung der SI die Kortikalis als konstante Messgröße verwendet werden sollte. Die Größe der ROI spielt dabei eine untergeordnete Rolle. Für die Bestimmung der Läsionsgröße ist es ausreichend die Ebene mit der maximalen CSA für die Kontrolle des Heilungsverlaufes zu verwenden. Die Bestimmung der SI, der CSA und des daraus resultierenden Läsionsvolumen kann mittels des Programmes Mathematica automatisiert werden. Bei allen genannten Messungen ist es zwingend erforderlich für eine Verlaufsbeurteilung immer dieselbe Messmethode einzusetzen, da die Zahlenwerte verschiedener Methoden nicht vergleichbar sind. In der Beurteilung des Heilungsverlaufes weisen T_2 -Sequenz und Ultraschall vergleichbare Werte auf, die jedoch sehr schnell abfallen und daher nicht für die Detektion chronischer Erkrankungen geeignet sind. Über den gesamten Untersuchungszeitraum von 24 Wochen post Serum-Applikation waren die Sehnenläsionen in T_1 - und T_2^* -Sequenz nachweisbar. Zur längerfristigen Überwachung des Heilungsfortschrittes sind diese daher zu bevorzugen.

7 SUMMARY

Bohner, Melanie

Comparative evaluation of different quantitative techniques to analyse the tendon healing in horses by use of magnetic resonance imaging and ultrasonography

Large Animal Clinic for Surgery Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in November 2018

75 pages, 29 figures, 10 tables, 45 references, 49 appendices

Keywords: horse, magnetic resonance imaging, tendon healing, ultrasound

Tendon disease is a common problem in equine athletes and often results in retirement from racing and jumping competitions. In the past years, numerous studies focused on strategies to support tendon regeneration. To evaluate new therapeutic approaches based on ultrasound and magnetic resonance imaging (MRI), different parameters, imaging and image analysis techniques are being used, limiting comparability between studies. Furthermore, the development of the Hallmarq Equine Limb Scanner® facilitated MRI of the equine distal limb enormously. However, the scanning of a limb in several different MRI sequences as well as image analysis remain time-consuming. The aim of the current work was to evaluate which approaches to imaging and image analyses are most suitable for diagnosis and monitoring of tendon lesions with respect to their informative value as well as the time required.

From March 2014 to March 2015, a study on tendon healing was conducted at the Large Animal Clinic for Surgery, University of Leipzig (TVV 34/13). Tendon lesions were induced in the superficial digital flexor tendons of six healthy horses by a combined surgical and collagenase-based approach. Three weeks later, lesions were treated by local injections, at which the forelimb tendon lesions relevant to the current study were injected with 1ml of autologous serum. During a follow-up period of 24 weeks, low-field MRI and ultrasound imaging was performed at 10 and 9 time points, respectively. MRI included T_1 -, T_2 -, T_2^* - and STIR-sequences. After follow-up, the animals were euthanized and tendons were subjected to histology (hematoxylin and eosin as well as Masson's trichrome staining). 486 ultrasound and 4790 MRI images were available for analysis in the current study. The image series were analysed manually using the Synedra-software (Synedra AIM), using different approaches for estimation and standardization of signal intensity (SI) of the tendon lesions, analysis of the lesion cross sectional area (CSA) and lesion volume. For evaluation of SI standardization, histology results served as gold standard. Furthermore, an automated image analysis using the algebra system Mathematica (Wolfram Research Inc.) was performed and results compared to those obtained by manual measurements using Synedra. Finally, the visualization of the tendon lesions in ultrasound and different MRI sequences over time was evaluated.

For SI standardization, the cortical bone was most suitable as a reference. SI values calculated based on the formula *relative SI = SI (lesion) / SI (cortical bone)* correlated with the

histology results ($p < 0.05$). On that basis, the influence of the region of interest (ROI) used for SI measurement was evaluated. SI was measured within the whole lesion area, in the largest possible circular ROI, and in a 1 mm² circular ROI. All values correlated significantly ($p < 0.05$). With respect to CSA, on the one hand, the mean of all CSA within the image series per limb and time point was calculated. On the other hand, the maximum CSA per time point was measured, or the CSA was always measured at the level of the maximum CSA at time point 1. The measurements correlated well with each other ($p < 0.05$). The use of the automated image analysis with Mathematica was evaluated based on the parameters SI, CSA and lesion volume and was considered as feasible. Values obtained from the software correlated with those obtained by manual measurements using Synedra ($p < 0.05$). All so far mentioned parameters were also analysed with respect to comparability of values obtained by the different approaches using the Wilcoxon-Signed-Rank test. All paired tests revealed significant differences ($p < 0.05$). For comparison of imaging techniques, CSA values obtained by ultrasound and the different MRI sequences were compared. MRI sequences were additionally evaluated regarding SI and lesion volume. The development of the different parameters over time was investigated. Ultrasound correlated only with the T₂ MRI sequence ($p < 0.05$), both showing a rapid decrease in CSA. T₁- and T₂*-MRI sequences displayed a similar development over time, with SI as well as CSA decreasing only at later time points compared to the T₂ sequence. For STIR sequences, no valid results could be obtained, as there were too many image artefacts.

In conclusion, the cortical bone should be used as reference for SI standardization, whereas the size of the ROI plays only a minor role in SI measurement. For evaluation of lesion size, it is sufficient to obtain the CSA from the level of maximum injury to monitor tendon healing. SI, CSA and lesion volume can be analysed automatically using the Mathematica software. For all parameters, it is essential to always use the same approach within the course of a study, as values obtained based on the different approaches are not comparable. For monitoring tendon healing, T₂ MRI sequences and ultrasound lead to similar results but are not suitable to detect chronic disease. In T₁- und T₂* sequences, tendon lesions were detected during the whole follow-up period of 24 weeks. Therefore, these sequences are advantageous for long-time monitoring of tendon healing.

8 LITERATURVERZEICHNIS

Ahrberg AB, Horstmeier C, Berner D, Brehm W, Gittel C, Hillmann A, et al. Effects of mesenchymal stromal cells versus serum on tendon healing in a controlled experimental trial in an equine model; BMC Musculoskeletal Disorders 2018;19:230.

Berner D, Brehm W, Gerlach K, Gittel C, Offhaus J, Paebst F, et al. Longitudinal Cell Tracking and Simultaneous Monitoring of Tissue Regeneration after Cell Treatment of Natural Tendon Disease by Low-Field Magnetic Resonance Imaging; Stem Cells International 2016;1-13.

Bosch G, van Weeren PR, Barneveld A, van Schie HT. Computerised analysis of standardised ultrasonographic images to monitor the repair of surgically created core lesions in equine superficial digital flexor tendons following treatment with intratendinous platelet rich plasma or placebo. The Veterinary Journal 2011;187:92-8.

Budras KD, Röck S. Atlas der Anatomie des Pferdes. 6. Auflage. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co.KG; 2009.

Burk J, Berner D, Brehm W, Hillmann A, Horstmeier C, Josten C, et al. Long-Term Cell Tracking Following Local Injection of Mesenchymal Stromal Cells in the Equine Model of Induced Tendon Lesions. Cell Transplantation 2016;25(12):2199-211.

Crass JR, Genovese RL, Render JA, Bellon EM. Magnetic resonance, ultrasound and histopathologic correlation of acute and healing equine tendon injuries. Veterinary Radiology & Ultrasound 1992;33(4):206-16.

Crovace A, Lacitignola L, Rossi G, Francioso E. Histological and Immunohistological Evaluation of Autologous Cultured Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Bone Marrow Mononucleated Cells in Collagenase-Induced Tendinitis of Equine Superficial Digital Flexor Tendon. Veterinary Medicine International 2010;Article ID 250978:10 p

Dowling BA, Dart AJ, Hodgson DR, Smith RK. Superficial digital flexor tendonitis in the horse. Equine Veterinary Journal 2000;32(5):369-78.

Estrada RJ, Van Weeren PR, Van de Lest CH, Boere J, Reyes M, Ionita JC, et al. Comparison of healing in forelimb and hindlimb surgically induced core lesions of the equine superficial digital flexor tendon. Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology 2014;27:358-65.

Ferrari M, Weller R, Pfau T, Payne RC, Wilson AM. A comparison of three-dimensional ultrasound, two-dimensional ultrasound and dissections for determination of lesion volume in tendons. Ultrasound in Medicine & Bioogy. 2006;32(6):797-804.

- Geburek F, Mundle K, Conrad S, Hellige M, Walliser U, van Schie HT, et al. Tracking of autologous adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells with in vivo magnetic resonance imaging and histology after intralesional treatment of artificial equine tendon lesions – a pilot study. *Stem Cell Research & Therapy* 2016;7:Article121.
- Hügler T, Majewski M, Valderrabano V. Zell- und molekularbiologische Abläufe bei der Heilung von Sehnenverletzungen. *Schweizerische Zeitung für Sportmedizin und Sporttraumatologie* 2012;60(2):49-51.
- Karjalainen PT, Soila K, Aronen HJ, Pihlajamäki HK, Tynniinen O, Paavonen T, et al. MR Imaging of Overuse Injuries of the Achilles Tendon. *American Journal of Roentgenology* 2000;175:251-60.
- Karlin WM, Stewart AA, Durgam SS, Naughton JF, O'Dell-Anderson KJ, Stewart MC. Evaluation of experimentally induced injury to the superficial digital flexor tendon in horses by use of low-field magnetic resonance imaging and ultrasonography. *American Journal of Veterinary Research* 2011;72(6):791-8.
- Kasashima Y, Kuwano A, Katayama Y, Taura Y, Yoshihara T. Magnetic Resonance Imaging Application to Live Horse for Diagnosis of Tendinitis. *Journal of Veterinary Medical Science* 2002;64(7):577-82.
- Kidd JA, Lu KG, Frazer ML. *Atlas of Equine Ultrasonography*. 1. Auflage. UK: WILEY Blackwell; 2014.
- King JN, Zubrod CJ, Schneider RK, Sampson SN, Roberts G. MRI Findings in 232 Horses with Lameness localized to the Metacarpophalangeal Region and without a radiographic Diagnosis. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2013;54(1):36-47.
- Kleiter M, Kneissl S, Stanek C, Mayrhofer E, Baulain U, Deegen E. Evaluation of magnetic resonance imaging techniques in the equine digit. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 1999;40(1):15-22.
- Kruger R. Analysis and Comparison of the Signal Difference to Noise Ratio (SDNR), Signal Difference (SD), and the Signal to Noise Ratio (SNR): Evaluating the Suitability of the SD and SDNR as MRI Quality Control Parameters. *Proceedings of the 22nd Annual EMBS International Conference*; 2000 July 23-28; Chicago, IL. IEEE Publishing; 2000;pp2157-60.
- Küllmer K, Harland U. Sonographische Verlaufskontrolle von experimentellen partiellen Achillessehnenverletzungen. *Unfallchirurgie*. 1994;20(6):311-8.
- Martinello T, Pascoli F, Caporale G, Perazzi A, Iacopetti I, Partuno M. Might the Masson trichrome stain be considered a useful method for categorizing experimental tendon lesions?. *Histology and Histopathology*, 2015;30(8):963-9.
- Milner PI, Sidwell S, Talbot AM, Clegg PD. Short-term temporal alterations in magnetic resonance signal occur in primary lesions identified in the deep digital flexor tendon of the equine digit. *Equine Veterinary Journal* 2012;44(2):157-62.

- Möller HD, Evans CH, Maffuli N. Aktuelle Aspekte der Sehnenheilung. *Der Orthopäde* 2000;29(3):182-7.
- Murray RC. *Equine MRI*. 1. Auflage. UK: WILEY Blackwell; 2011
- Murray RC, Dyson SJ. Magnetic Resonance Imaging. In: Ross MW, Dyson SJ. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2. Auflage. St. Louis: Elsevier Saunders; 2011.pp239-245.
- Nowotny J, Kasten P. Physiologie der Sehnenheilung. *Orthopädie und Unfallchirurgie* up2date 2015;10:5-87.
- Padaliya NR, Ranpariya JJ, Kumar D, Javia CB, Barvalia DR. Ultrasonographic assessment of the equine palmar tendons. *Veterinary World* 2015;8(2):208-12.
- Patterson-Kane JC, Becker DL, Rich T. The Pathogenesis of Tendon Microdamage in Athletes: the Horse as a Natural Model for Basic Cellular Research. *Journal of Comparative Pathology* 2012;147:227-47.
- Patterson-Kane JC, Firth EC. The pathobiology of exercise-induced superficial digital flexor tendon injury in Thoroughbred racehorses. *The Veterinary Journal* 2009;181:79-89.
- Petrou CG, Karachalios TS, Khalid L, Karantanas AH, Lyritis GP. Calcitonin effect on Achilles tendon healing. An experimental study on rabbits. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions* 2009;9(3):147-54.
- Rantanen NW, Jorgensen JS, Genovese RL. Ultrasonographic Evaluation of the Equine Limb: Technique. In: Ross MW, Dyson SJ. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2. Auflage. St. Louis: Elsevier Saunders; 2011.pp182-205.
- Ross MW, Genovese RL, Dyson SJ, Jorgensen JS. Superficial Digital Flexor Tendinitis. In: Ross MW, Dyson SJ. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2. Auflage. St. Louis: Elsevier Saunders; 2011.pp706-26.
- Ross MW. Lameness in Horses: Basic Facts Before Starting. In: Ross MW, Dyson SJ. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2. Auflage. St. Louis: Elsevier Saunders; 2011.pp3-8.
- Salomon FV, Geyer H, Gille U. *Anatomie für die Tiermedizin*. 2. Auflage. Stuttgart: Enke Verlag; 2008.
- Schild HH. *MRI made easy*. 2. Aufl. Leverkusen: Bayer Vital GmbH; 1997.
- Schramme M, Hunter S, Campbell N, Blikslager A, Smith R. A surgical tendonitis model in horses: Technique, clinical, ultrasonographic and histological characterisation. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 2010;23(4):231-9.

- Schramme M, Kerekes Z, Hunter S, Labens R. MR imaging features of surgically induced core lesions in the equine superficial digital flexor tendon. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 2010;51(3):280-7.
- Shalabi A, Svensson L, Kristoffersen-Wiberg M, Aspelin P, Movin T. Tendon injury and repair after core biopsies in chronic Achilles tendinosis evaluated by serial magnetic resonance imaging. *British Journal of Sports Medicine* 2004;38:606-12.
- Sharma P, Maffuli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions* 2006;6(2):181-90.
- Sherlock CE, Mair TS, Ireland J, Blunden T. Do low field magnetic resonance imaging abnormalities correlate with macroscopical and histological changes within the equine deep digital flexor tendon?. *Research in Veterinary Science* 2015;98:92-7.
- Smith RK, McIlwraith CW. Consensus on equine tendon disease: Building on the 2007 Havemeyer symposium. *Equine Veterinary Journal* 2012;44(1):2-6.
- Smith RK, Webbon PM. The physiology of normal tendon and ligament; 1996. In: Patterson-Kane JC, Becker DL, Rich T. *The Pathogenesis of Tendon Microdamage in Athletes: the Horse as a Natural Model for Basic Cellular Research*. *Journal of Comparative Pathology* 2012;147:227-47.
- Tavares WC, de Castro UB, Paulino E, de Souza Vasconcellos L, Madureira AP, Baron Magalhães MA. Healing of the Achilles tendon in rabbits – evaluation by magnetic resonance imaging and histopathology. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research* 2014;9:Article 132.
- Watts AE, Nixon AJ, Yeager AE, Mohammed HO. A collagenase gel/physical defect model for controlled induction of superficial digital flexor tendonitis. *Equine Veterinary Journal* 2012;44:576-86.
- Van Schie HT, Bakker EM, Cherdchutham W, Jonker AM, van de Lest CH, van Weeren PR. Monitoring of the repair process of surgically created lesions in equine superficial digital flexor tendons by use of computerized ultrasonography. *American Journal of Veterinary Research* 2009;70(1):37-48.

9 ANHANG

9.1 Statistische Tabellen und Graphiken

9.1.1 Ergänzende Daten Kapitel 4.1

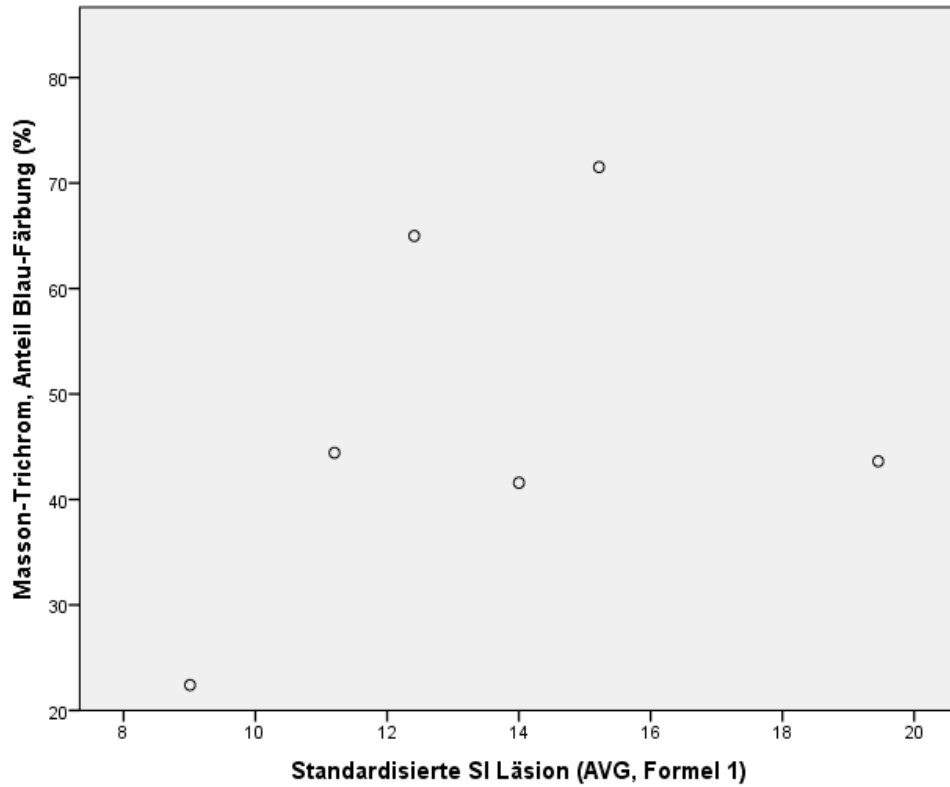


Abb. A 1: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 1 standardisierten AVG-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

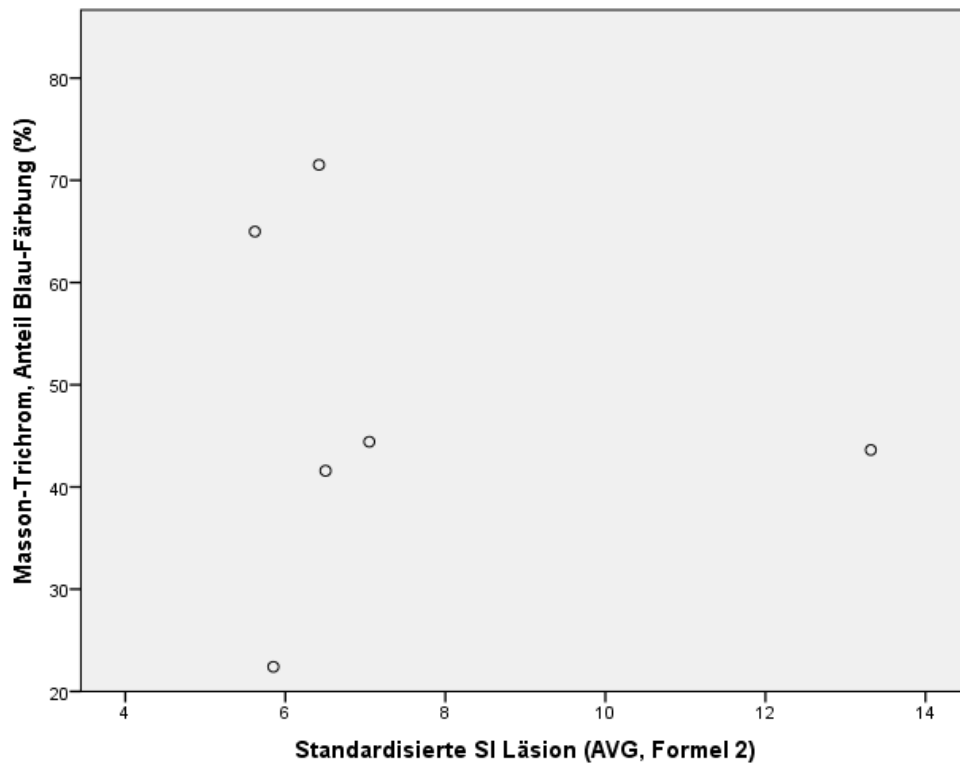


Abb. A 2: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 2 standardisierten AVG-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

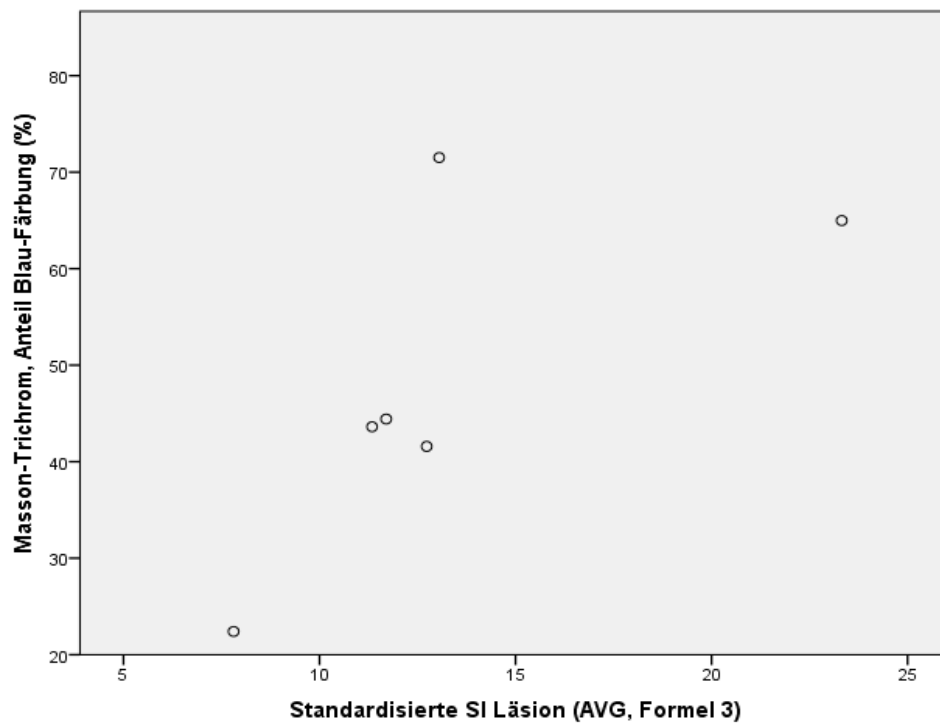


Abb. A 3: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten AVG-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

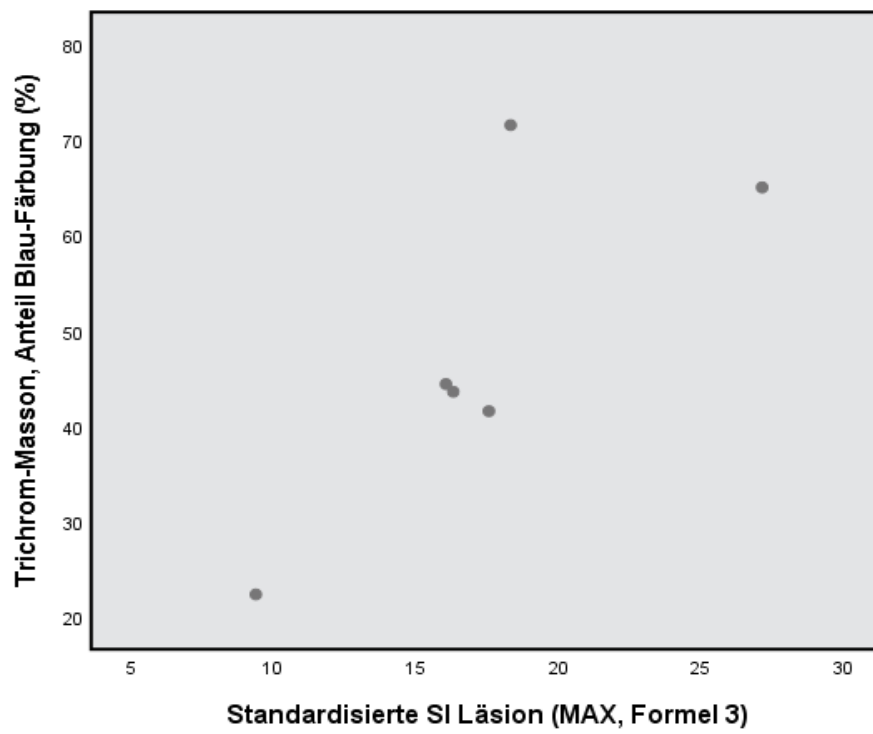


Abb. A 4: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten MAX-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

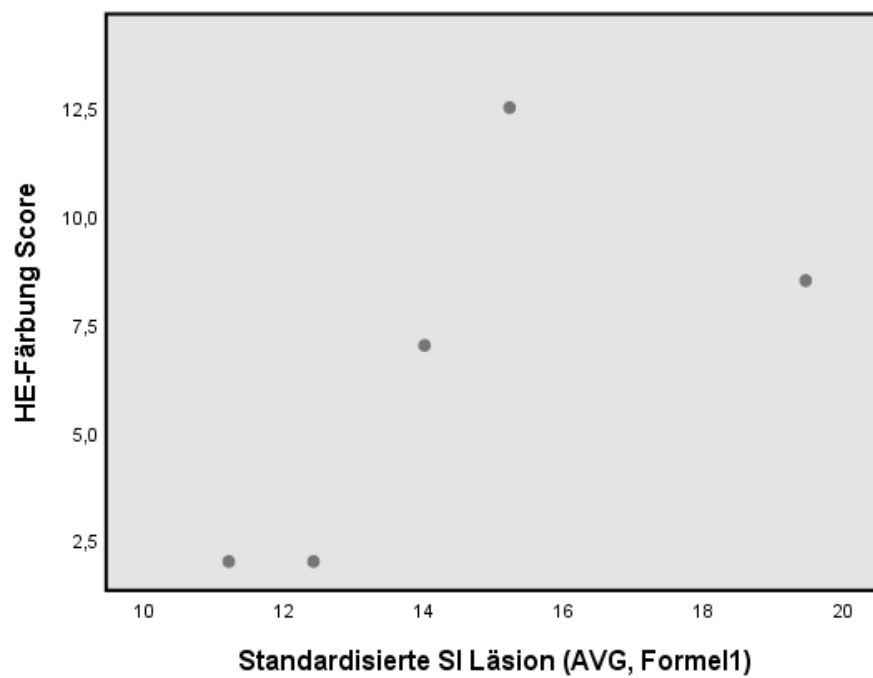


Abb. A 5: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 1 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

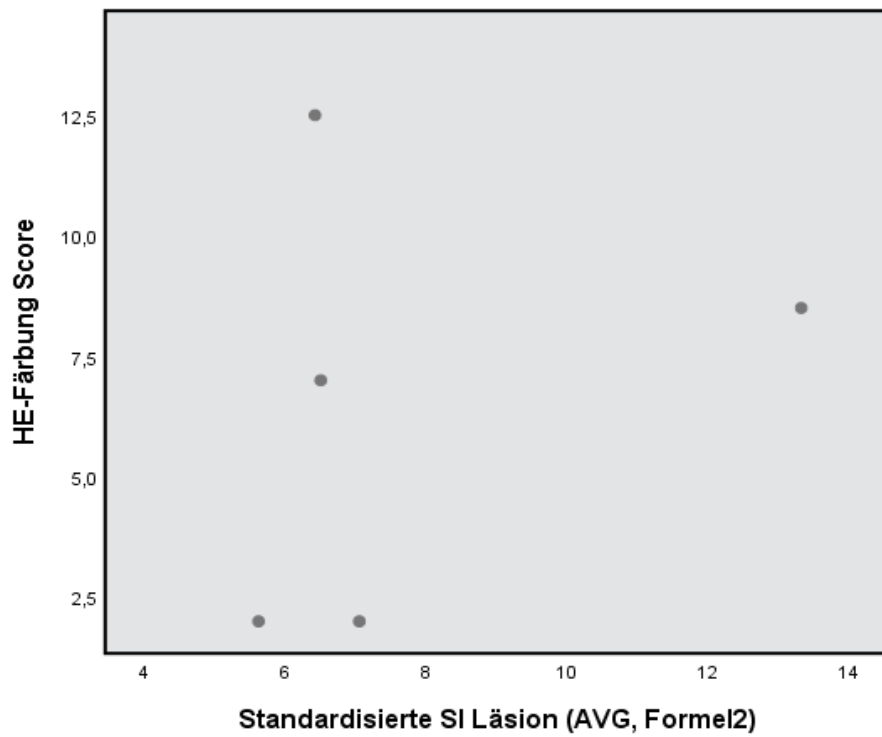


Abb. A 6: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 2 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

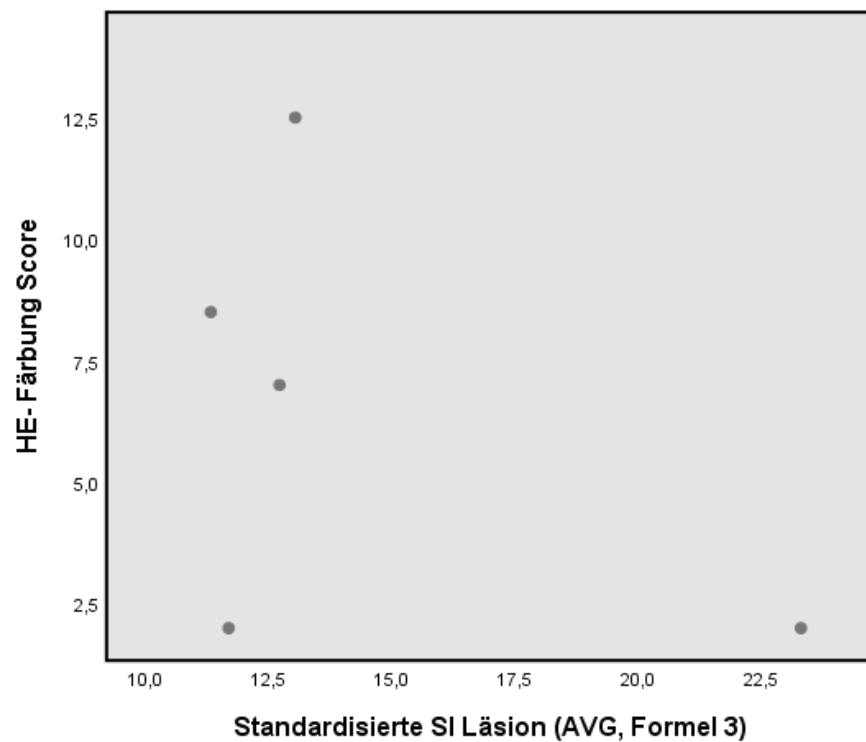


Abb. A 7: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

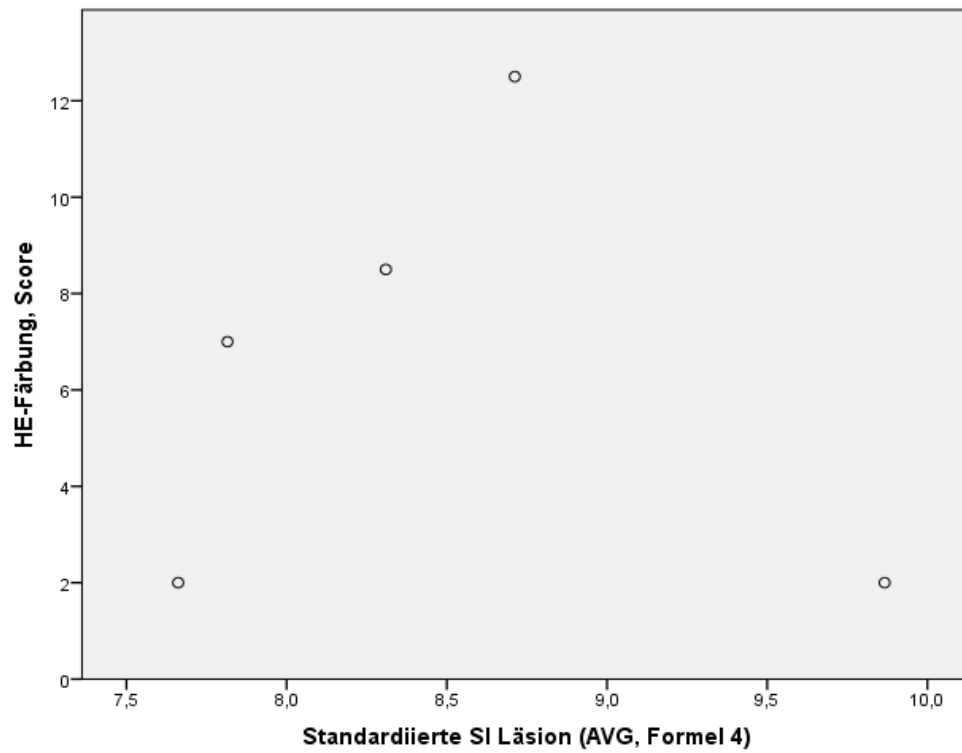


Abb. A 8: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

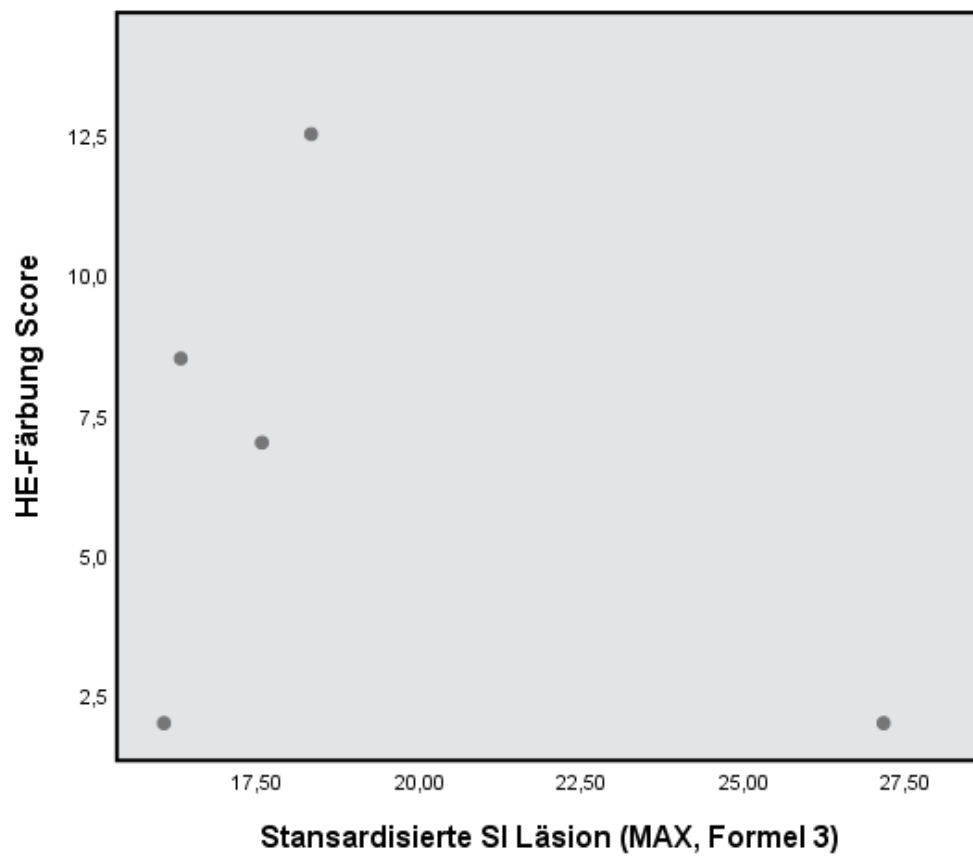


Abb. A 9: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

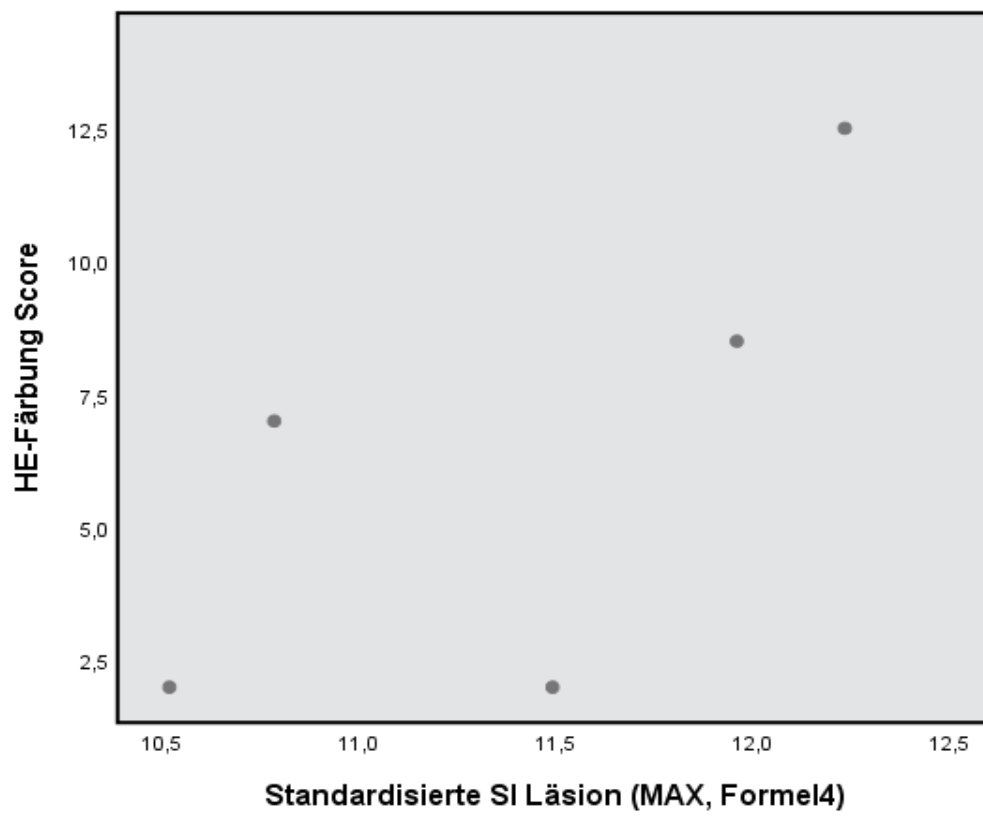


Abb. A 10: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T_1 -Sequenz

9.1.2 Ergänzende Daten Kapitel 4.2

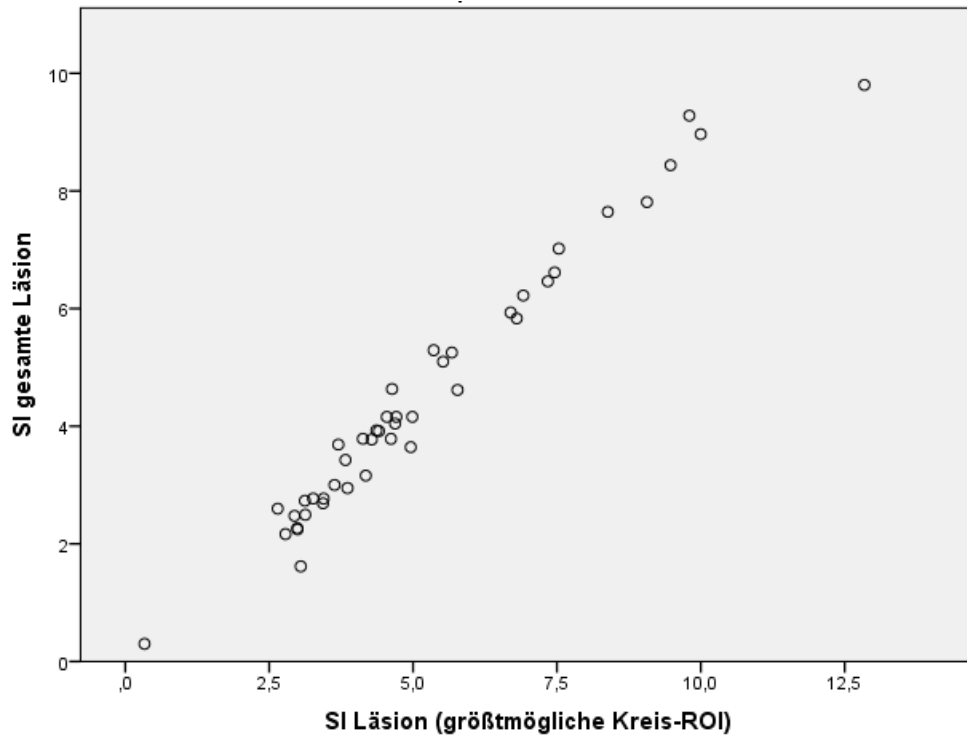


Abb. A 11: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der T_2 -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

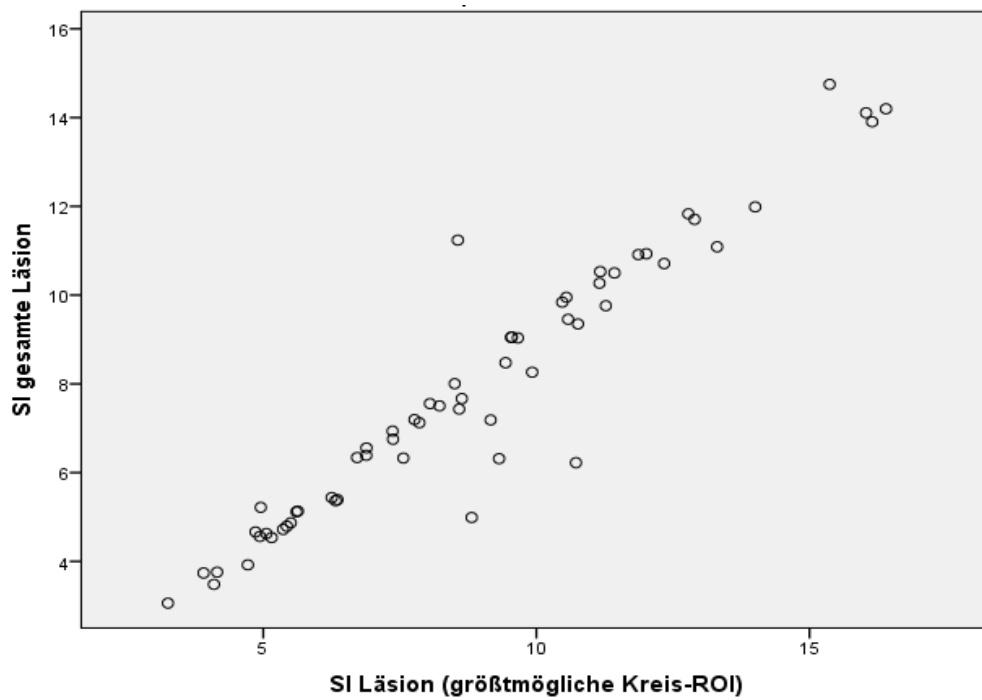


Abb. A 12: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der T_2^* -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

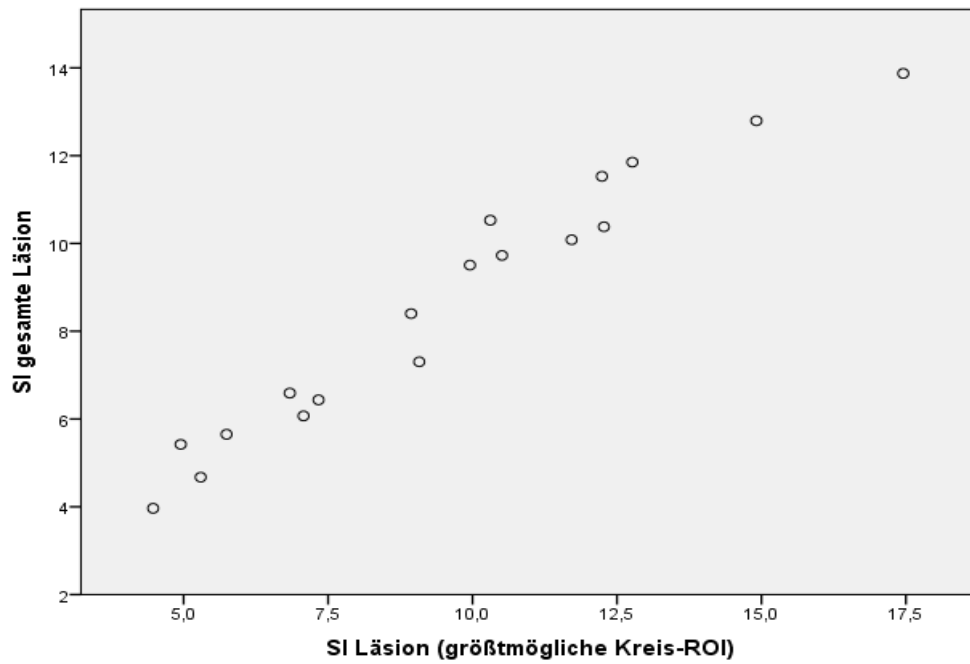


Abb. A 13: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

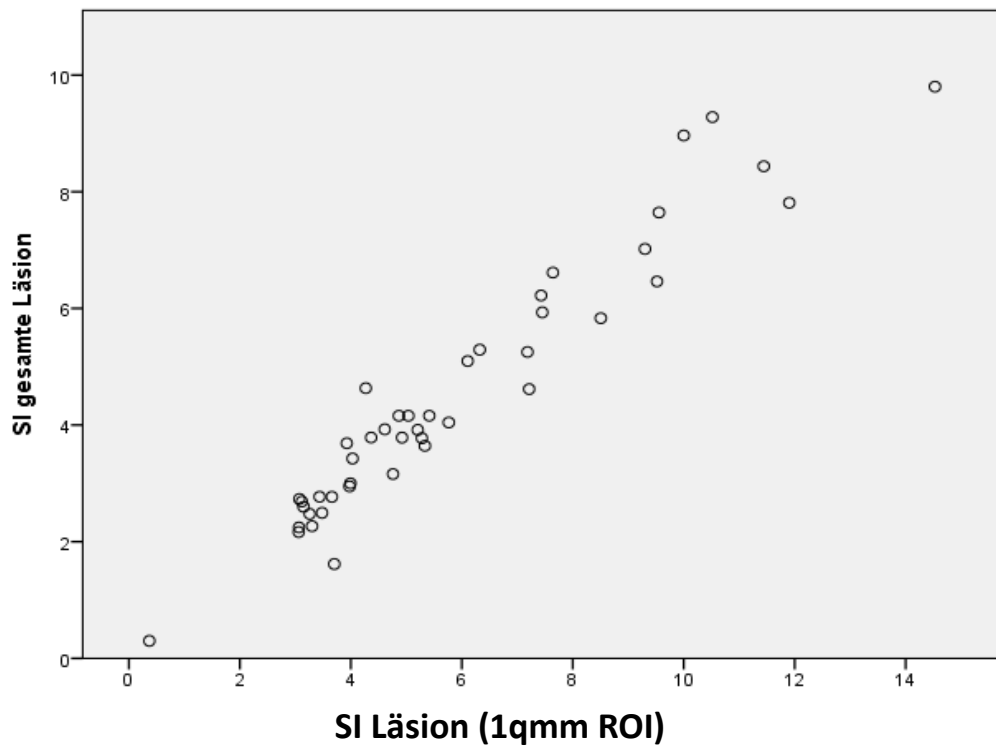


Abb. A 14: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1mm² Kreis-ROI) in der T₂-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

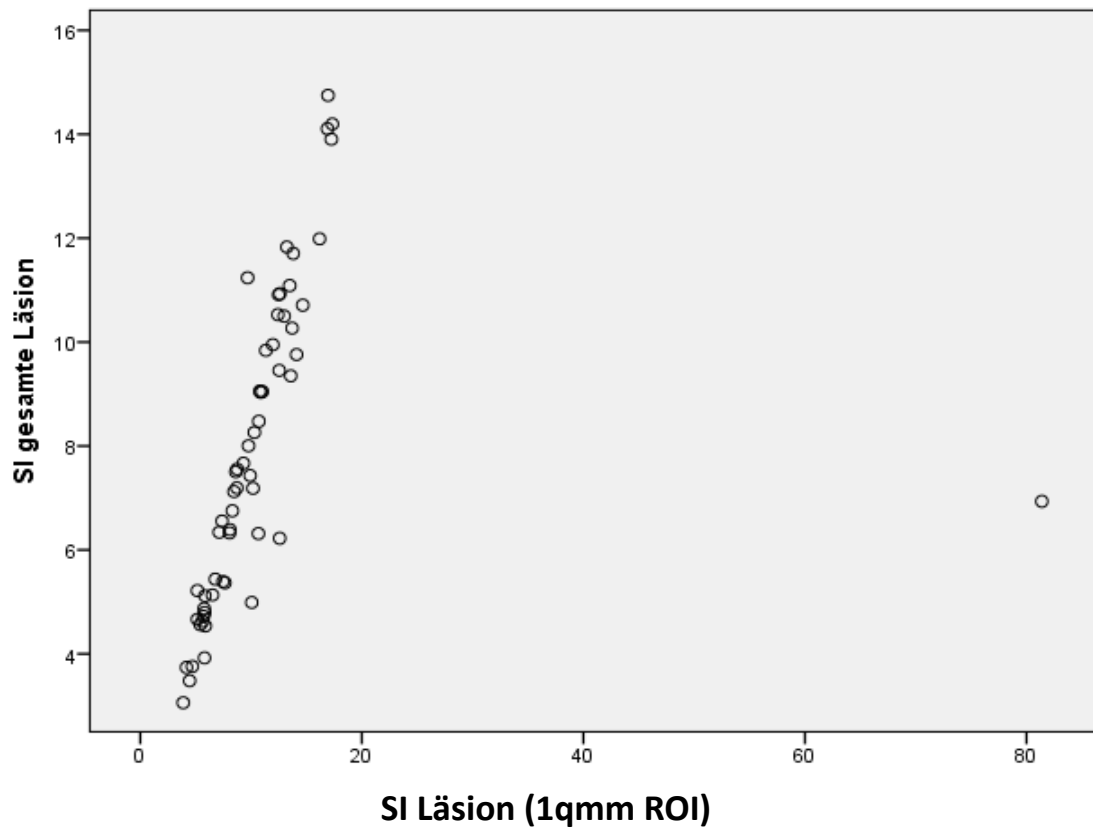


Abb. A 15: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1mm² Kreis-ROI) in der T₂*-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

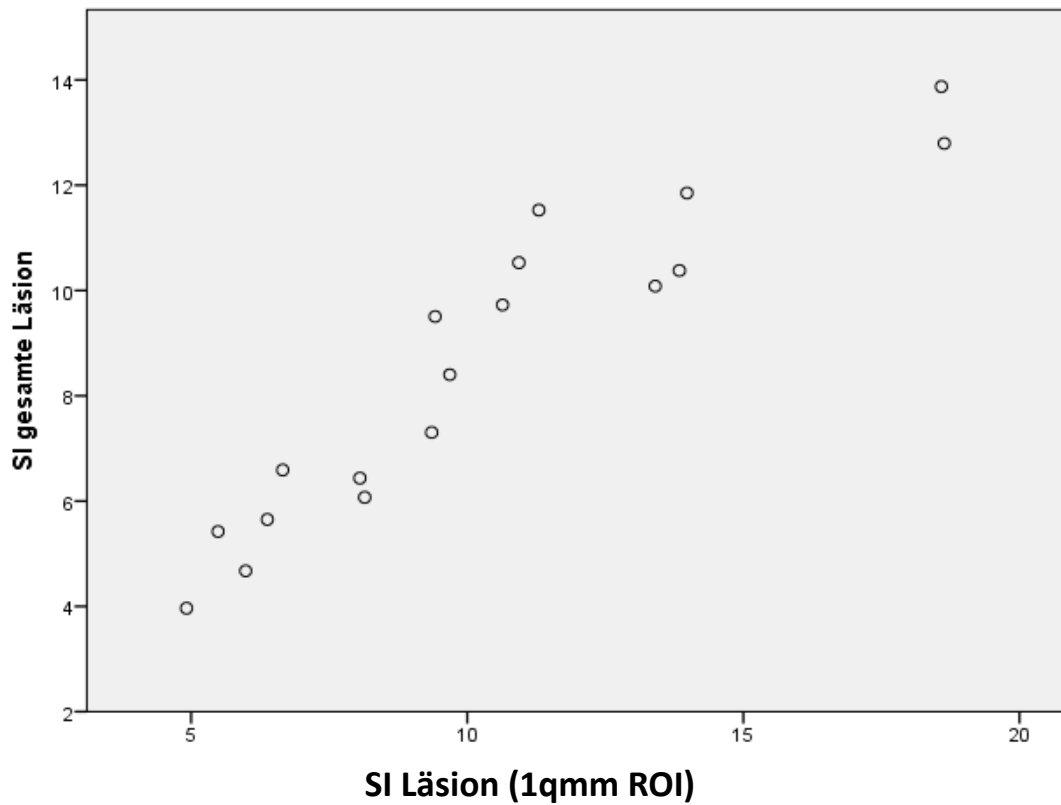


Abb. A 16: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1mm² Kreis-ROI) in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

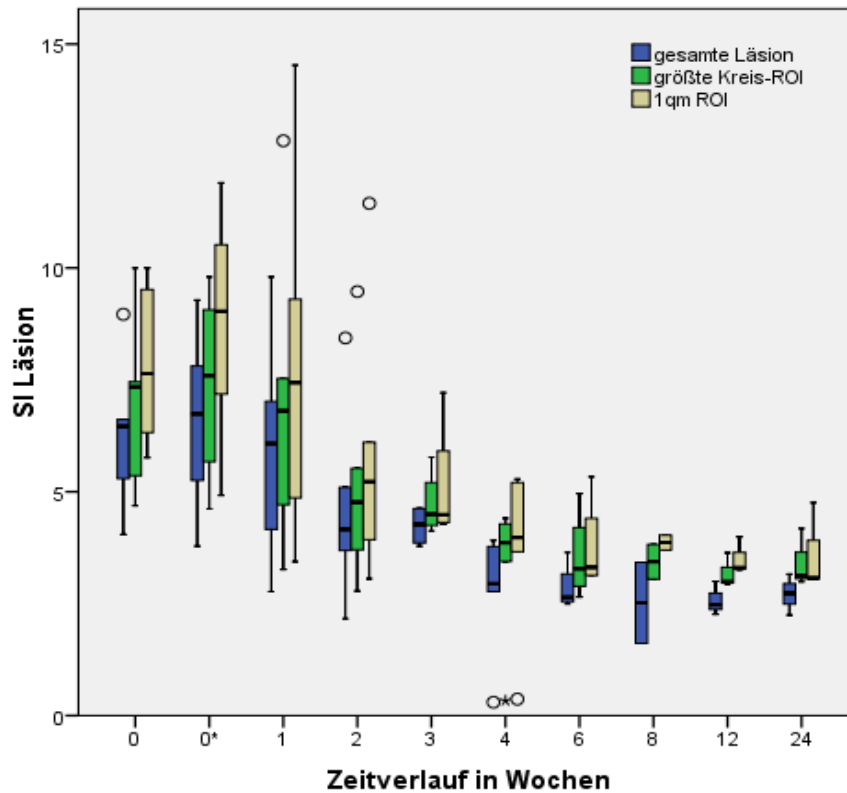


Abb. A 17: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der T₂-Sequenz, n = 44, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.

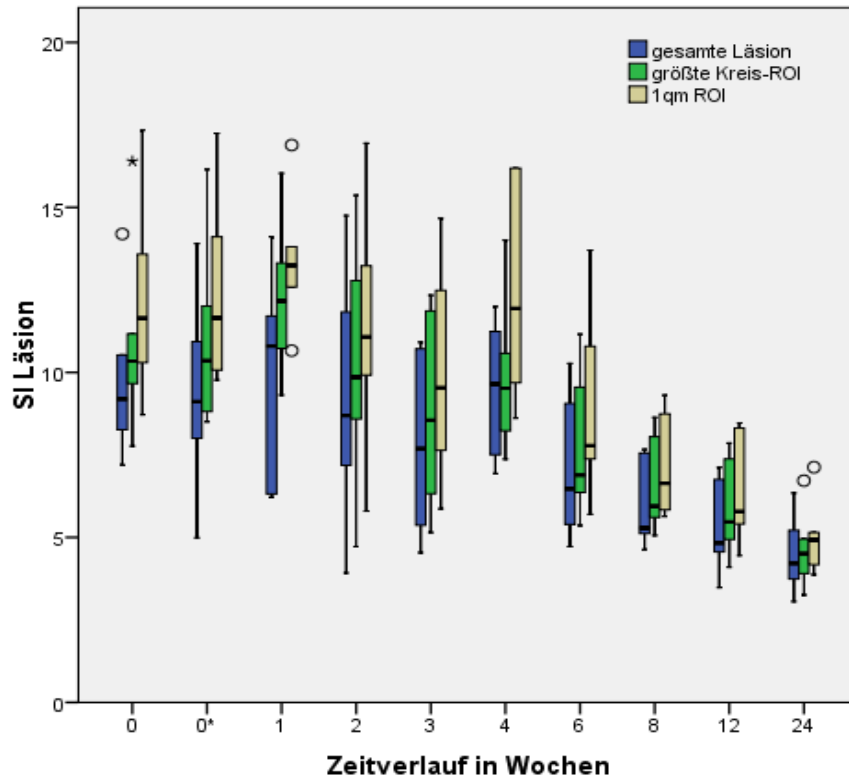


Abb. A 18: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der T_2^* -Sequenz, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.

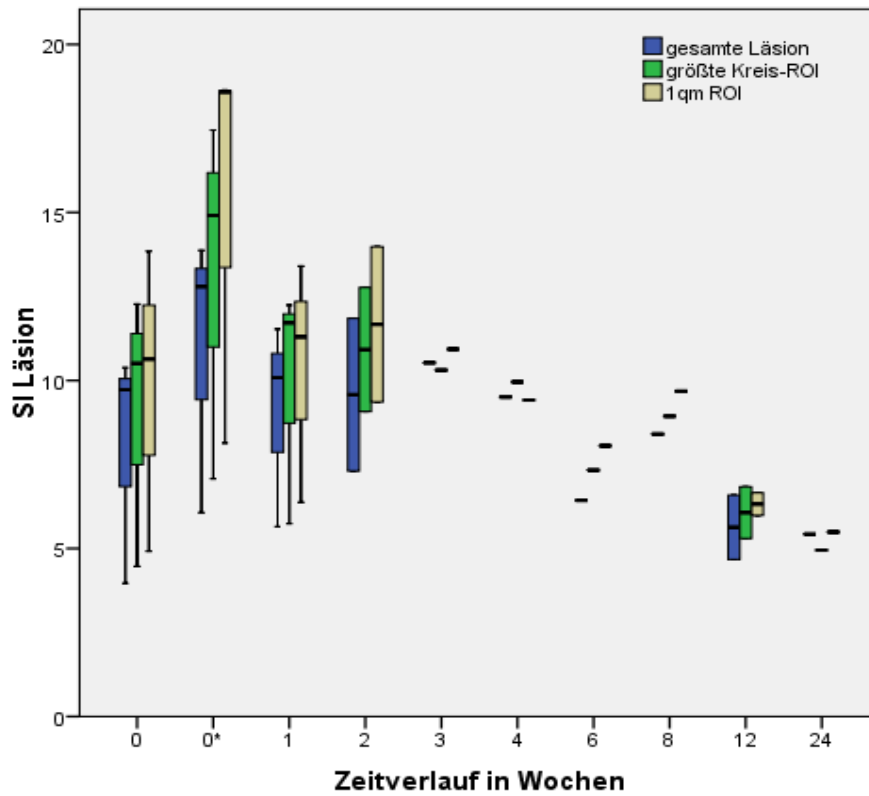


Abb. A 19: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der STIR-Sequenz, $n = 18$, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.

9.1.3 Ergänzende Daten Kapitel 4.3

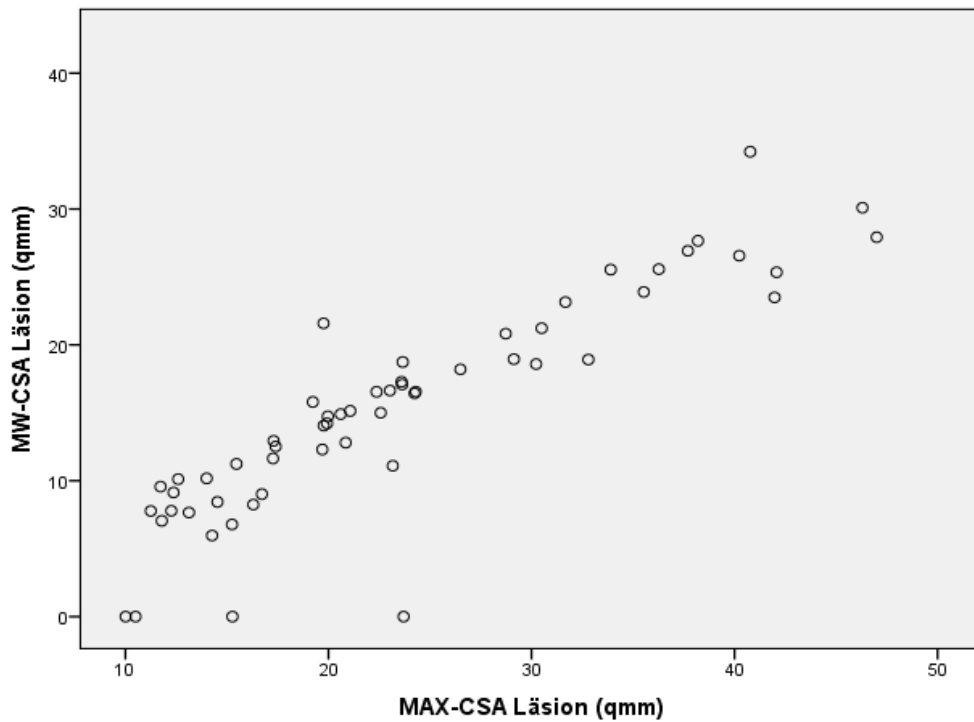


Abb. A 20: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der T_2 -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

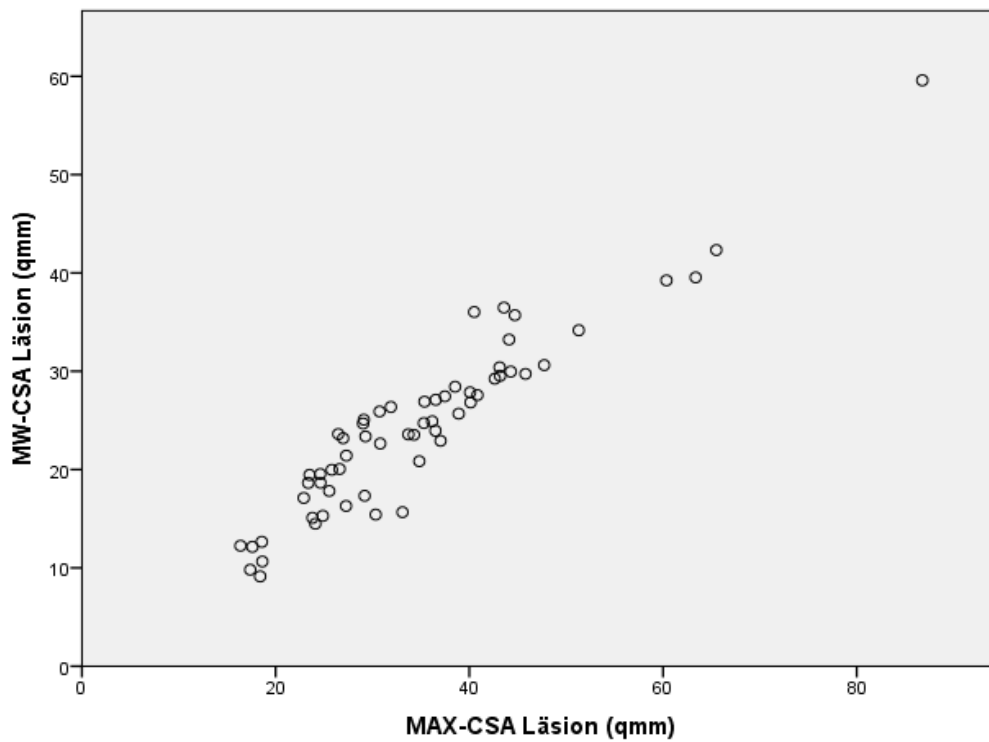


Abb. A 21: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der T_2^* -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

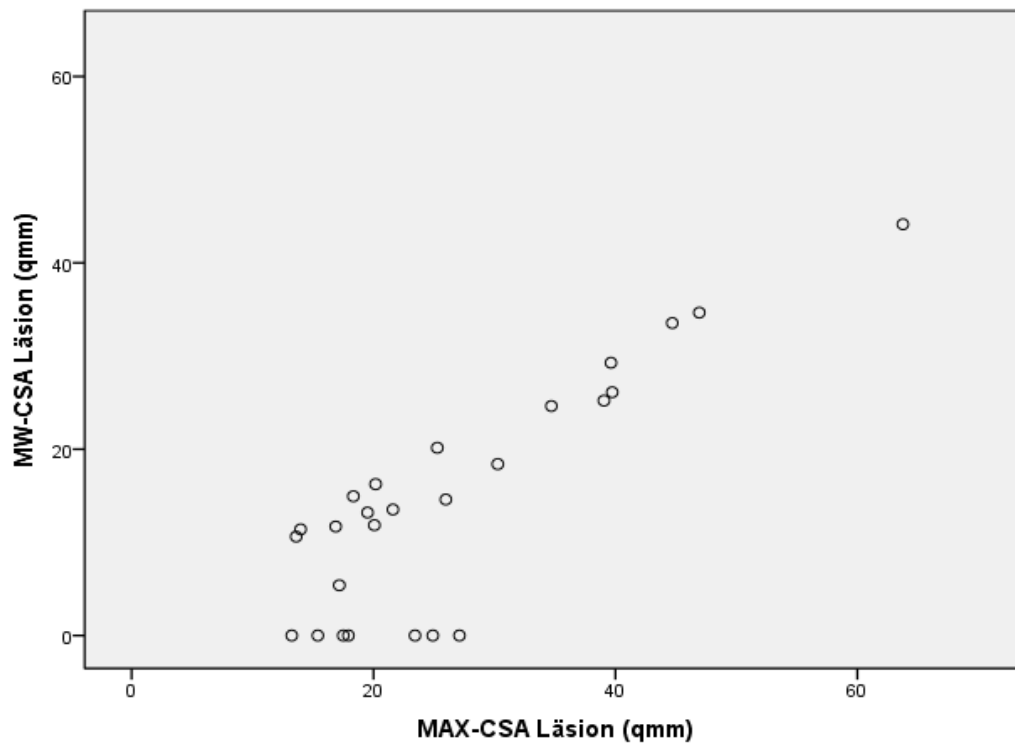


Abb. A 22: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

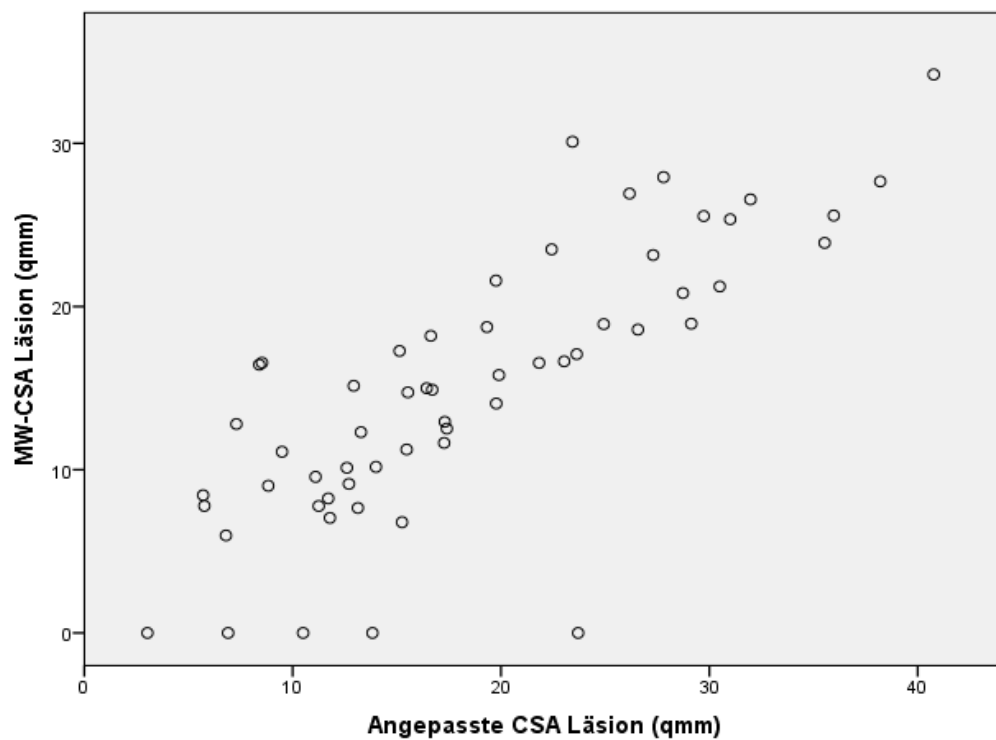


Abb. A 23: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der T₂-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

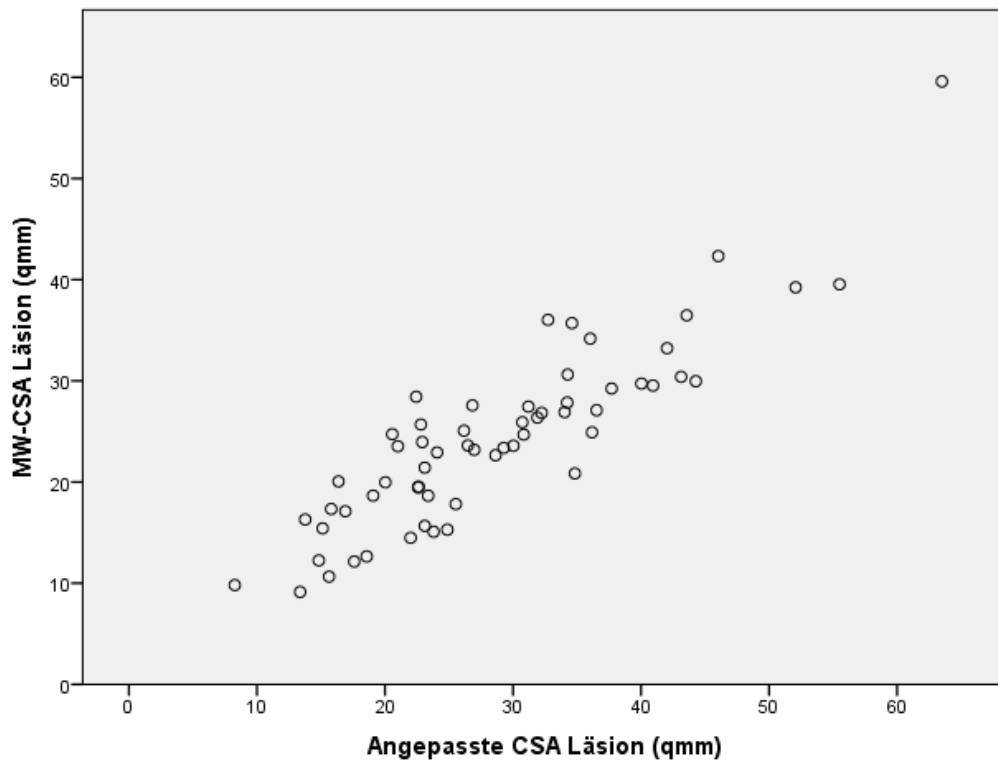


Abb. A 24: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der T_2^* -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

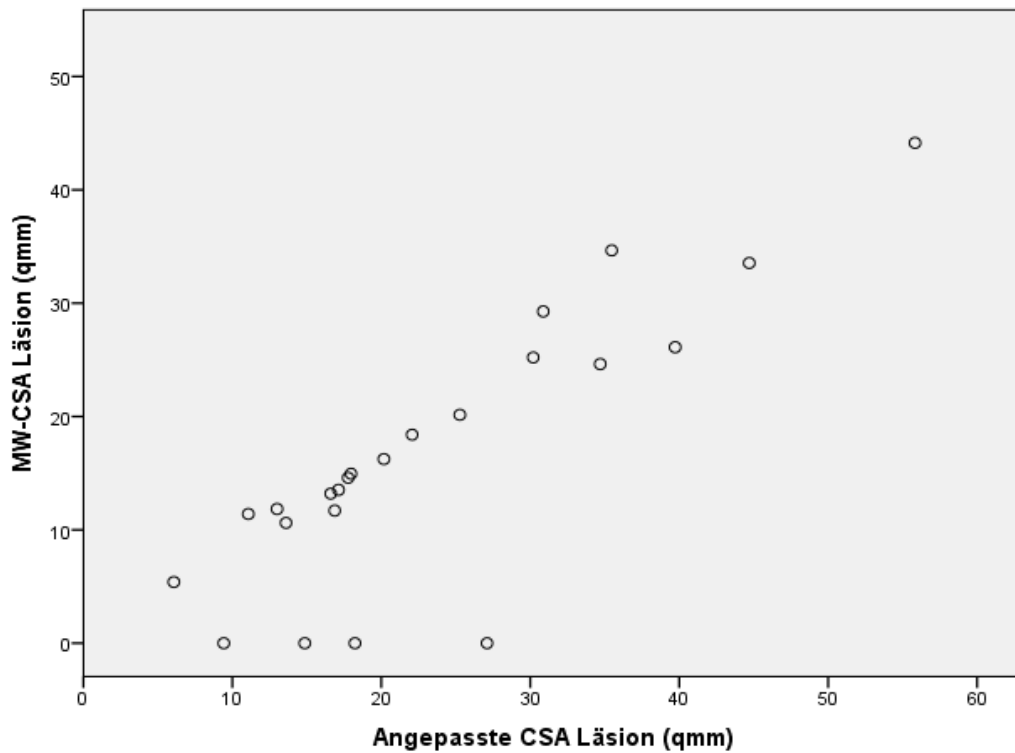


Abb. A 25: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst

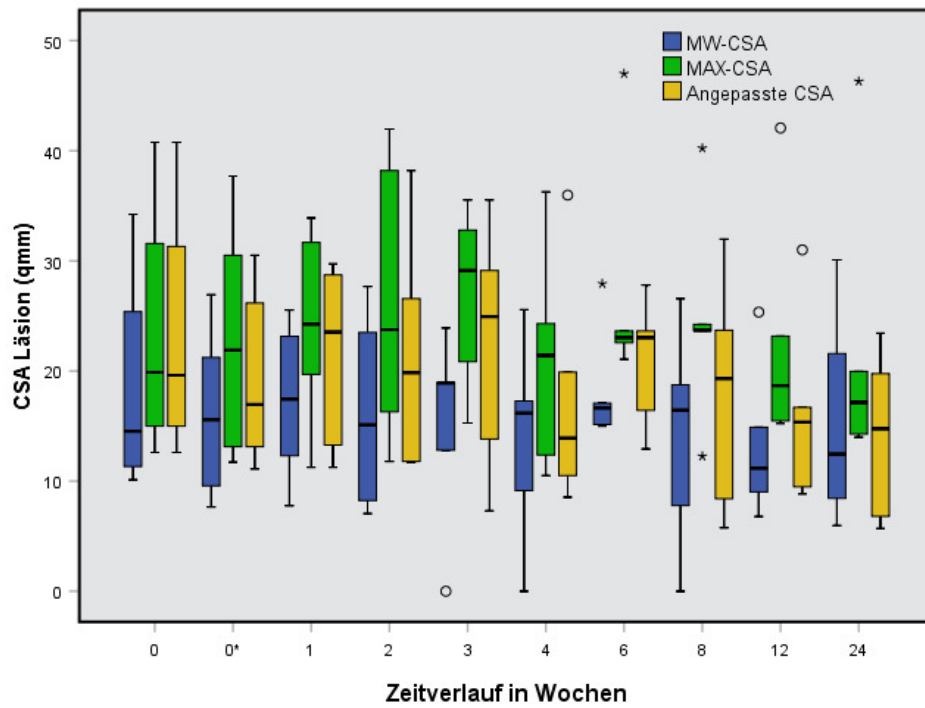


Abb. A 26: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der T_2 -Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, $n = 57$, 0* = nach Serumapplikation

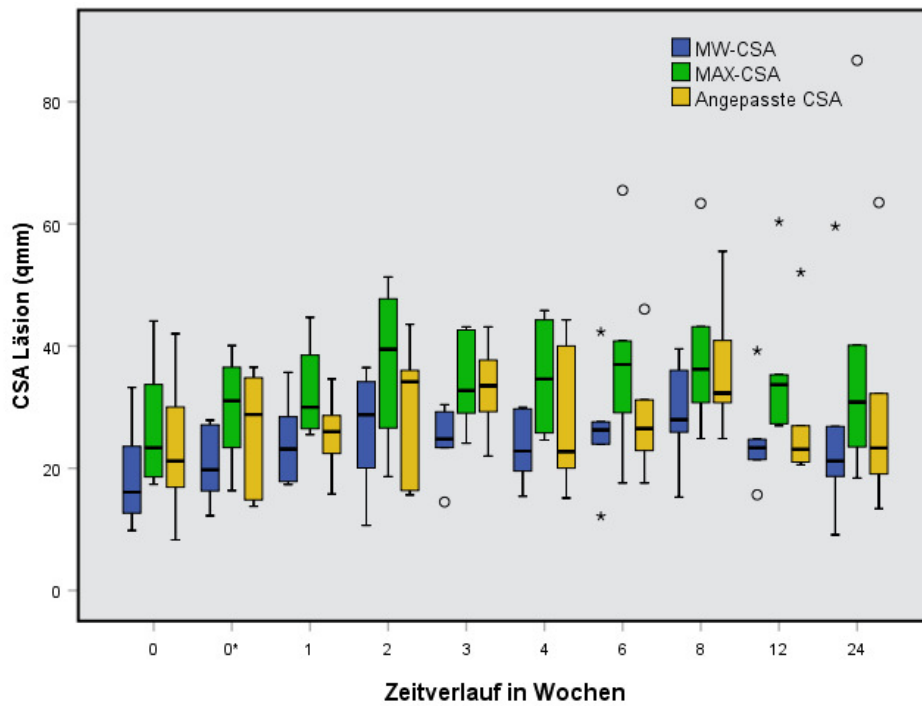


Abb. A 27: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der T_2^* -Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation

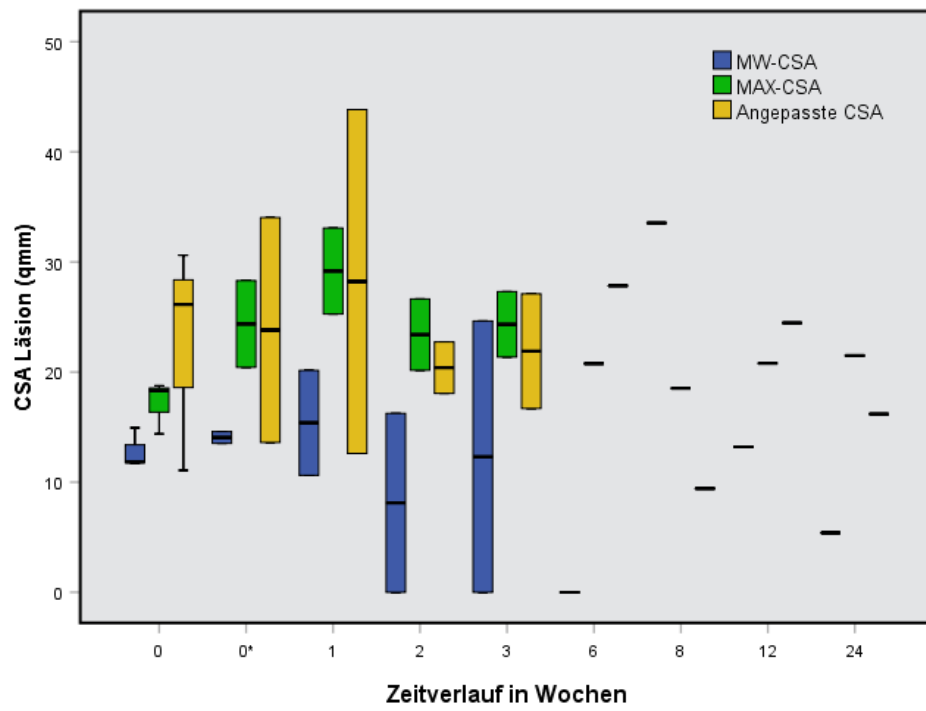


Abb. A 28: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der STIR-Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, $n = 26$, 0* = nach Serumapplikation

9.1.4 Ergänzende Daten Kapitel 4.4.1

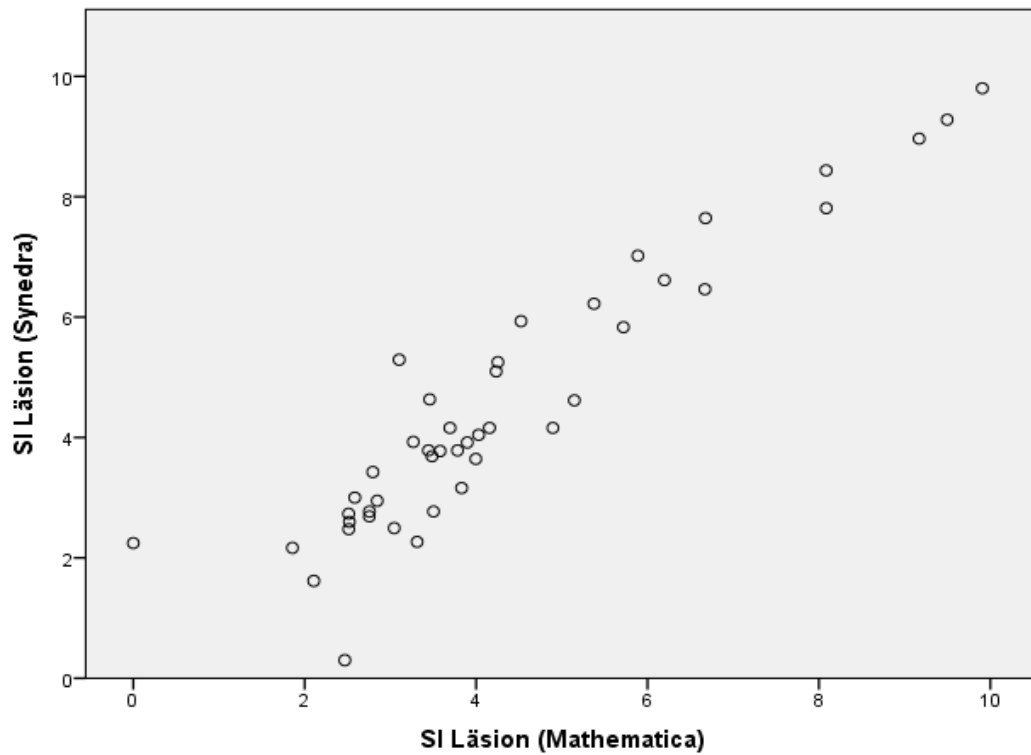


Abb. A 29: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der T_2 -Sequenz

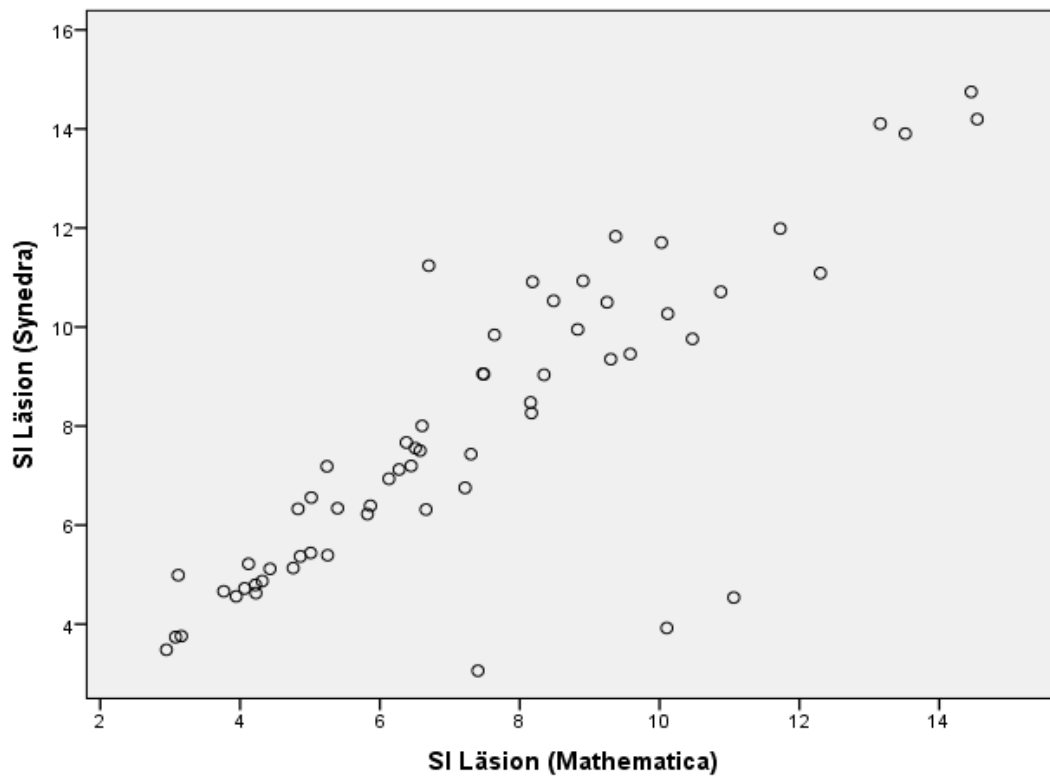


Abb. A 30: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der T_2^* -Sequenz

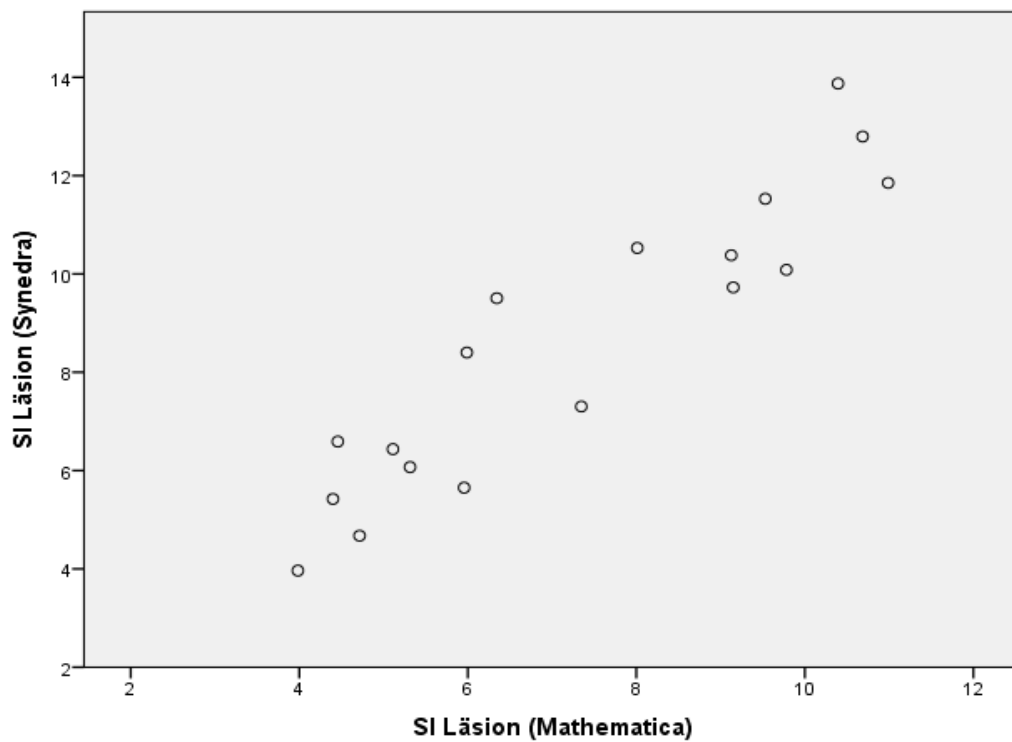


Abb. A 31: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der STIR-Sequenz

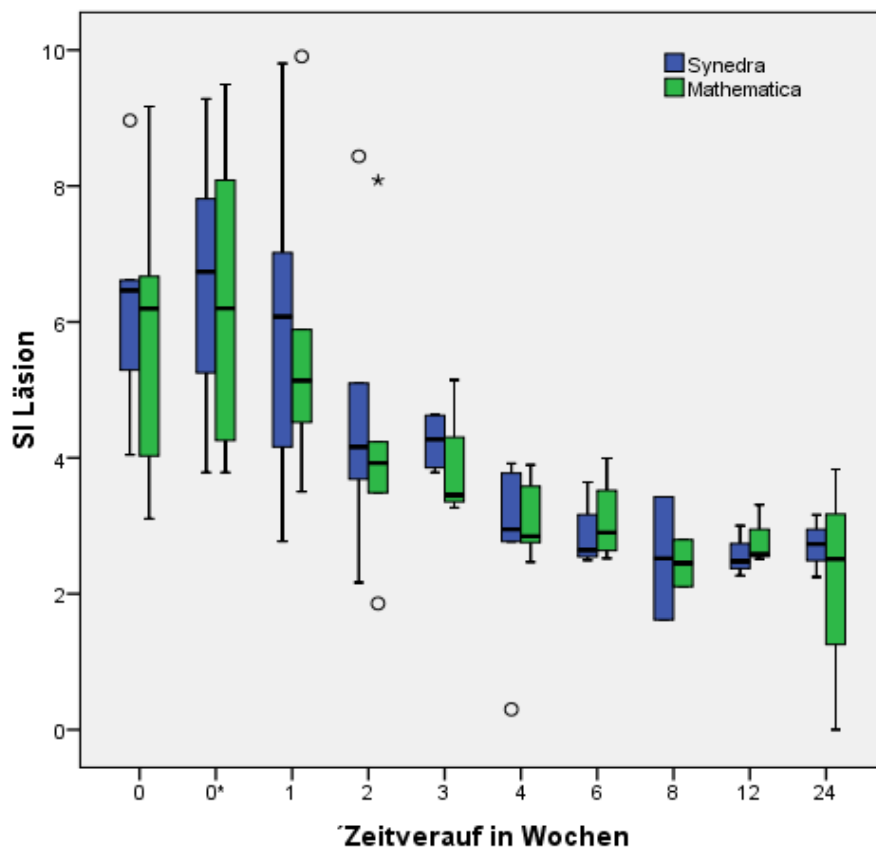


Abb. A 32: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_2 -Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, $n = 44$, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

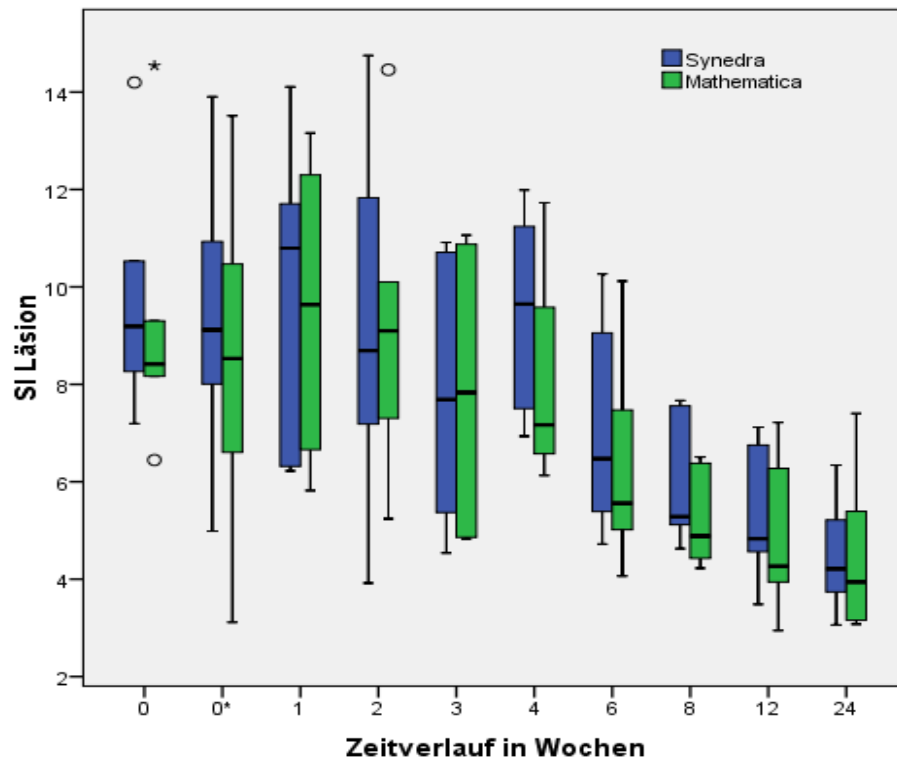


Abb. A 33: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_2^* -Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

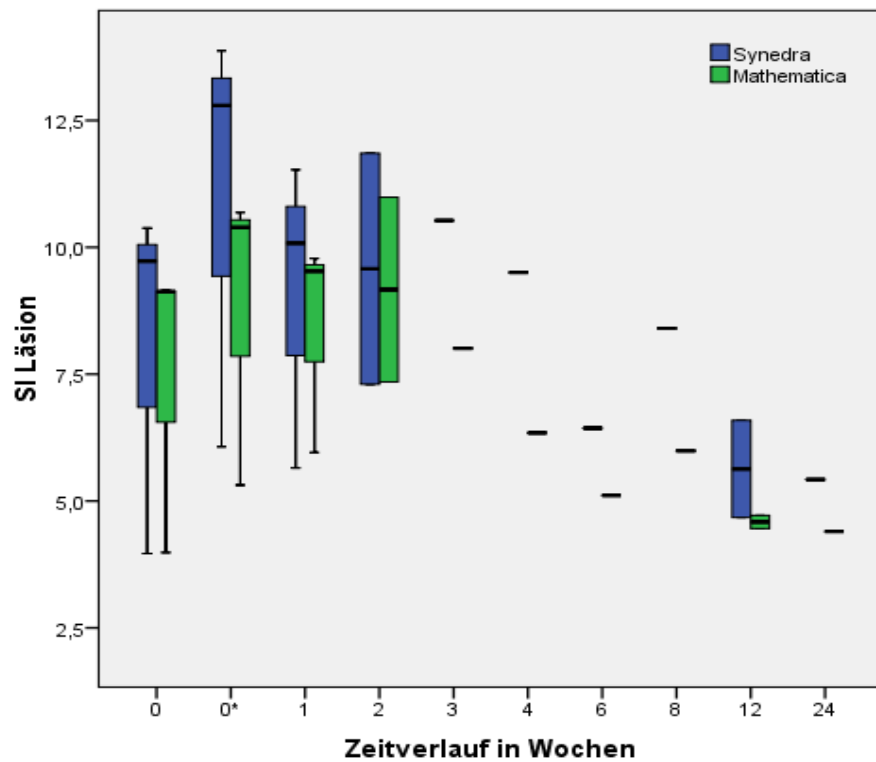


Abb. A 34: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der STIR-Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, $n = 18$, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte

9.1.5 Ergänzende Daten Kapitel 4.4.2

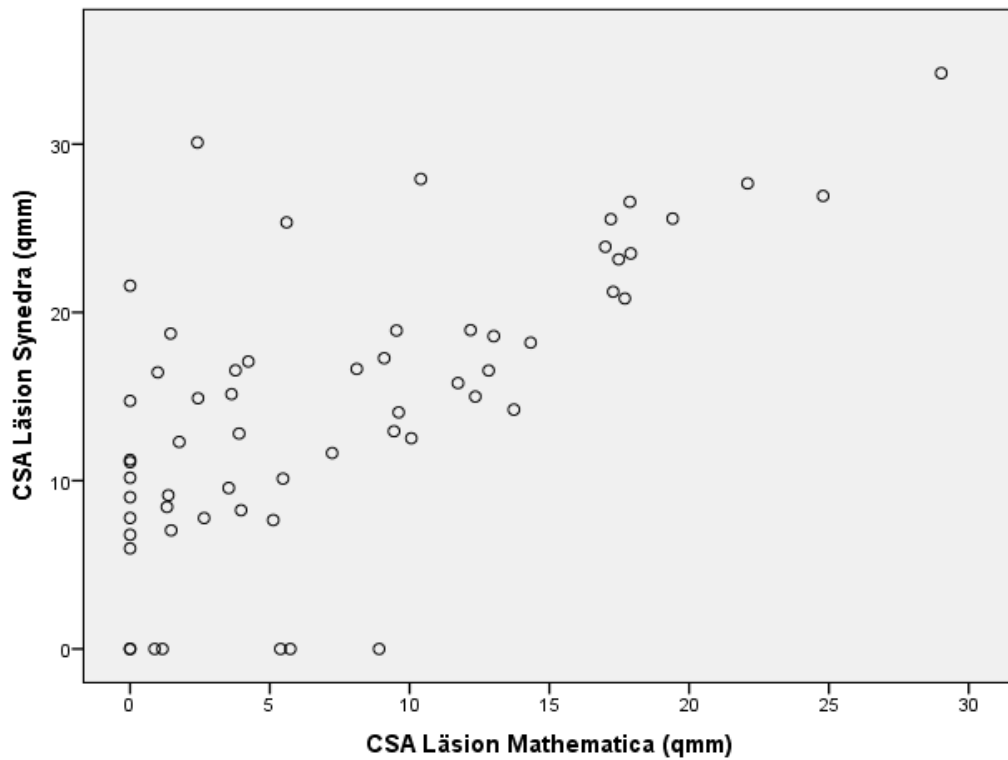


Abb. A 35: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der T_2 -Sequenz

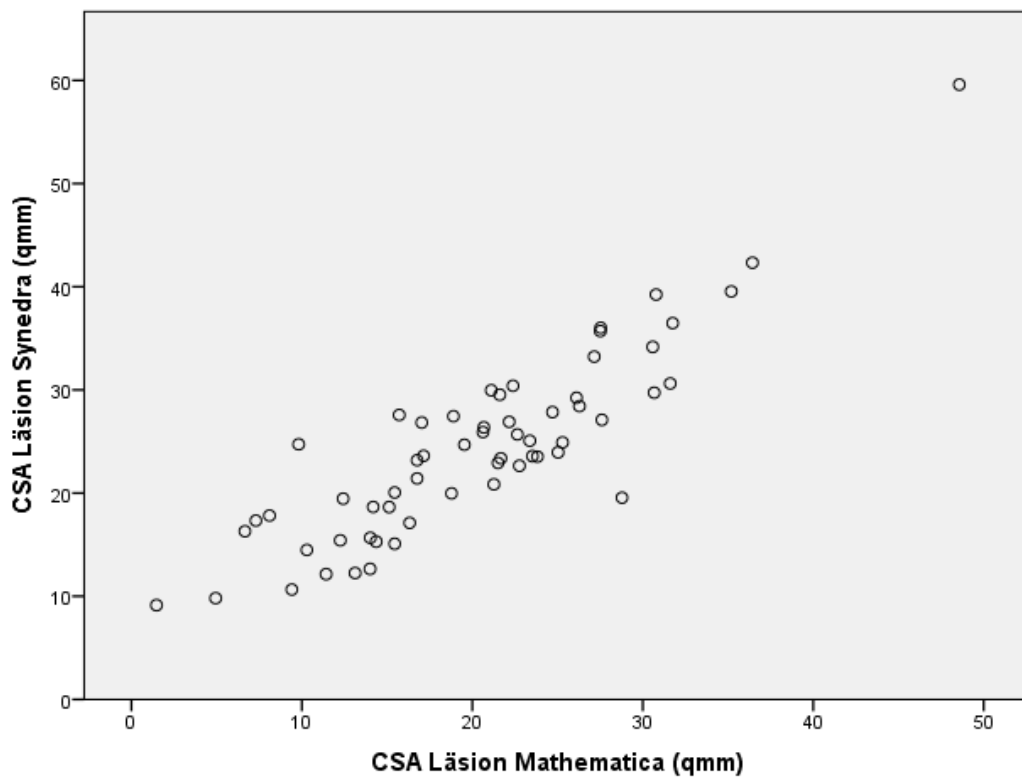


Abb. A 36: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der T_2^* -Sequenz

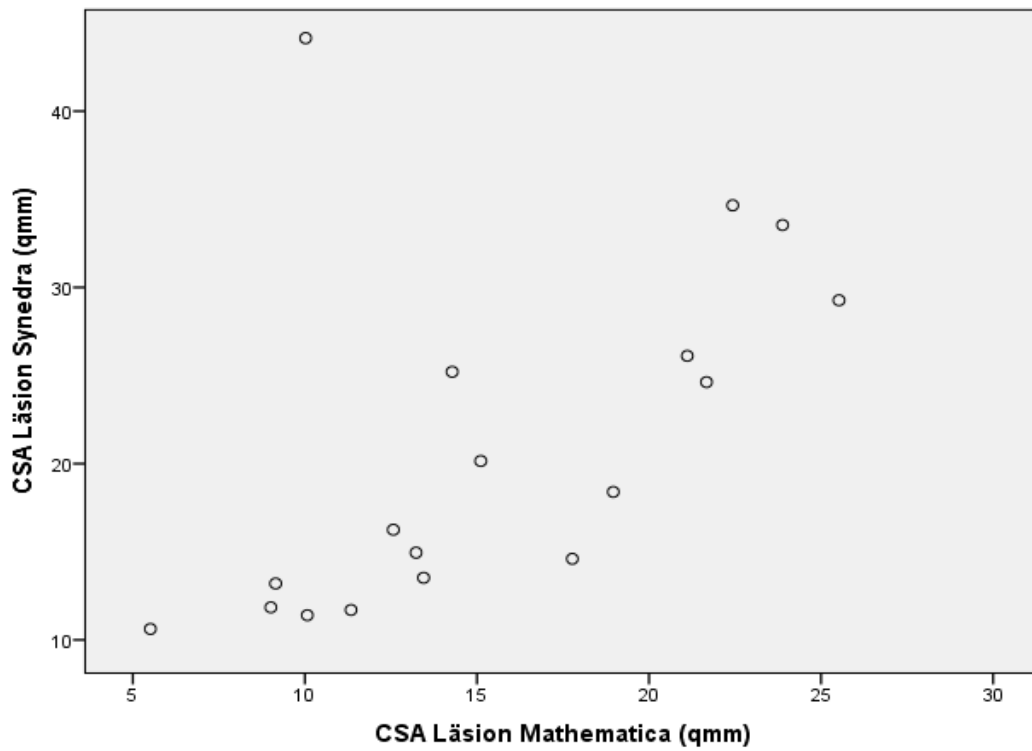


Abb. A 37: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der STIR-Sequenz

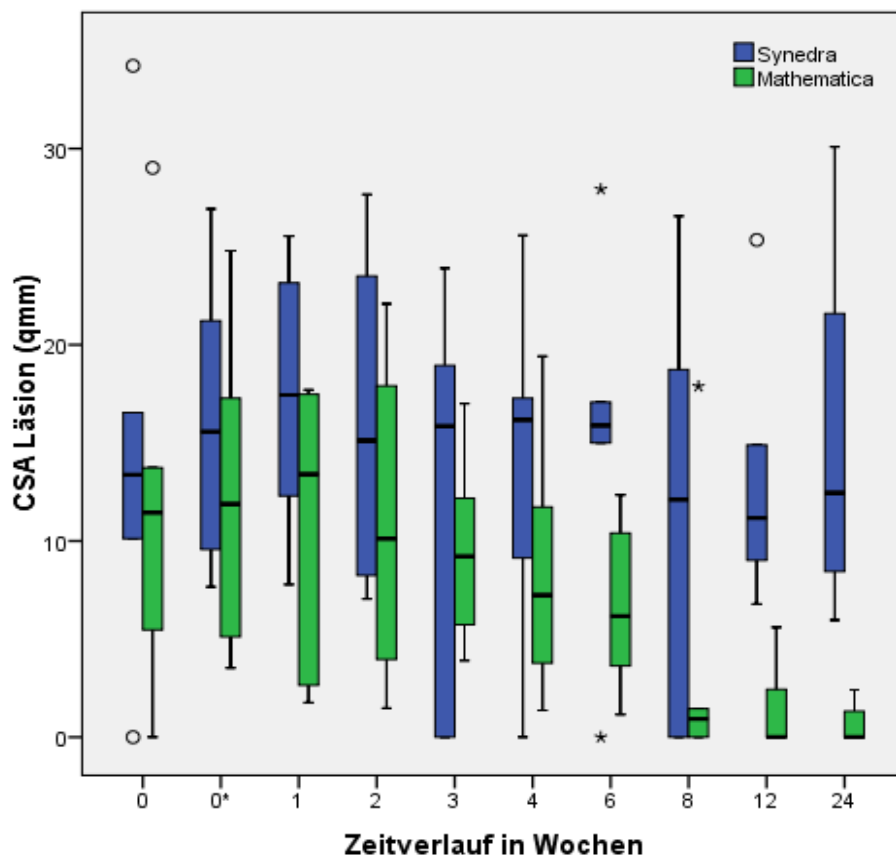


Abb. A 38: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_2 -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte

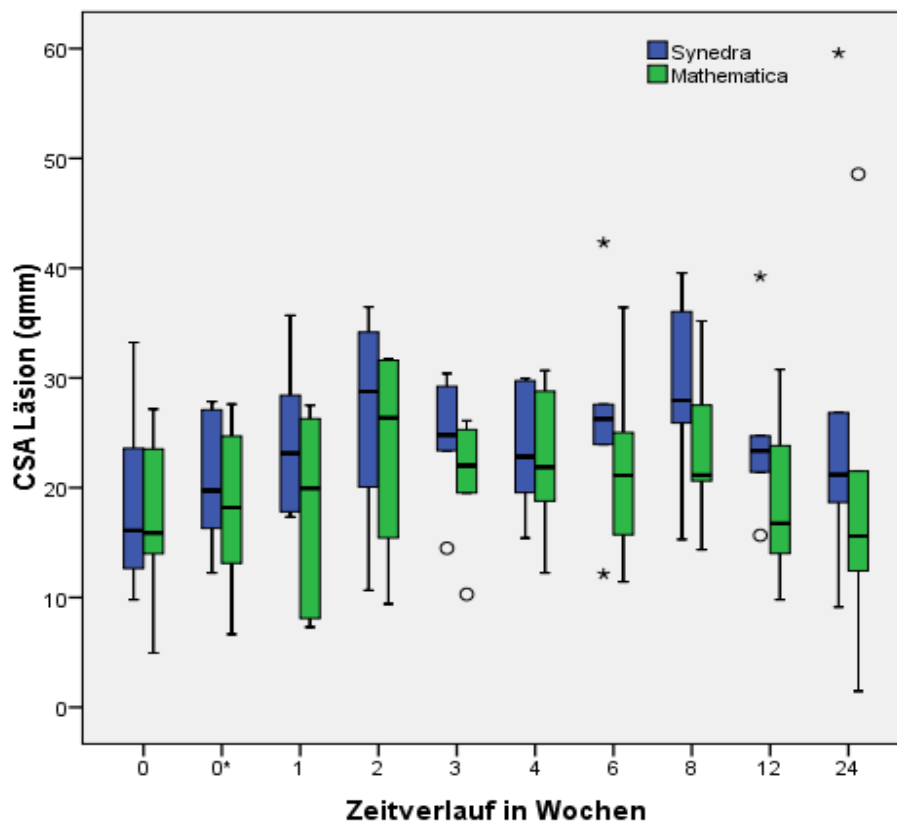


Abb. A 39: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_2^* -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte

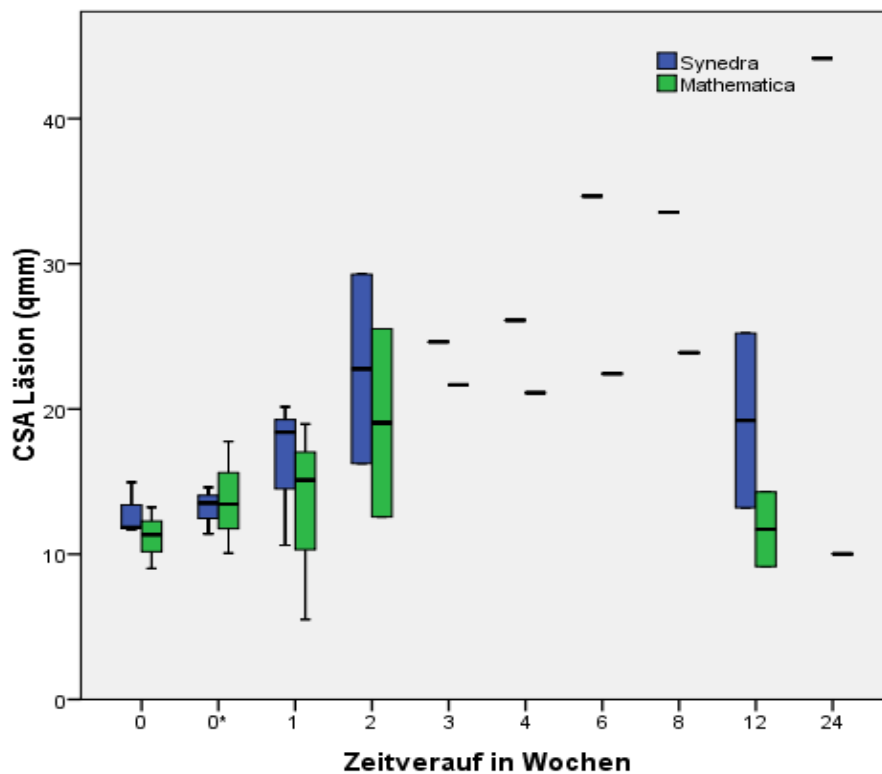


Abb. A 40: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der STIR-Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 18$, 0* = nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte

9.1.6 Ergänzende Daten Kapitel 4.4.3

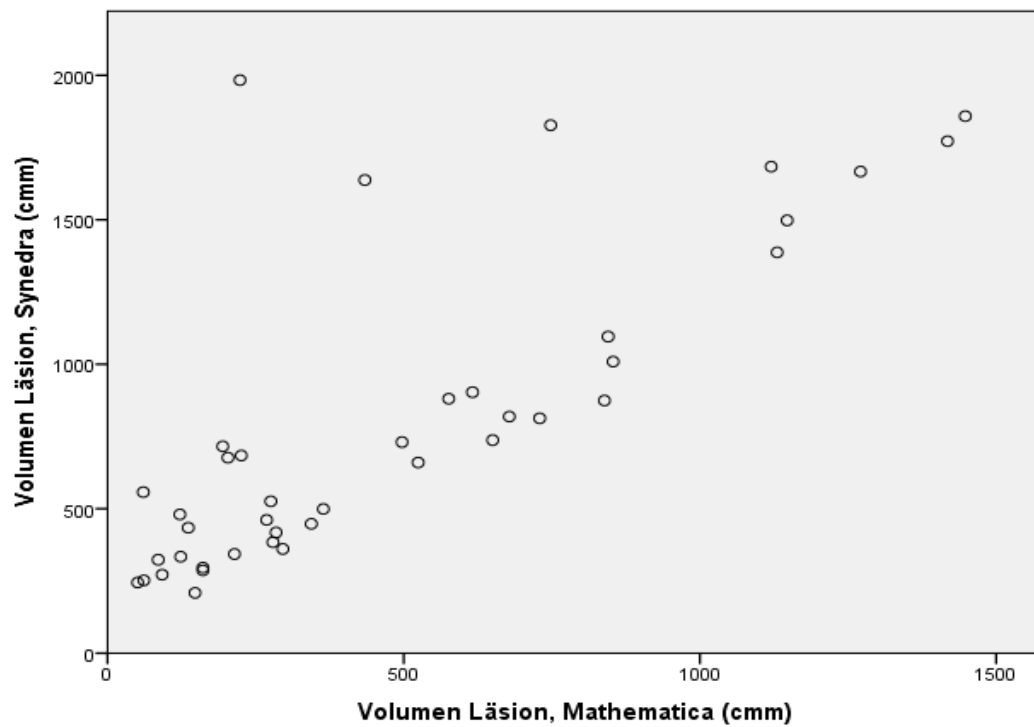


Abb. A 41: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der T_2 -Sequenz

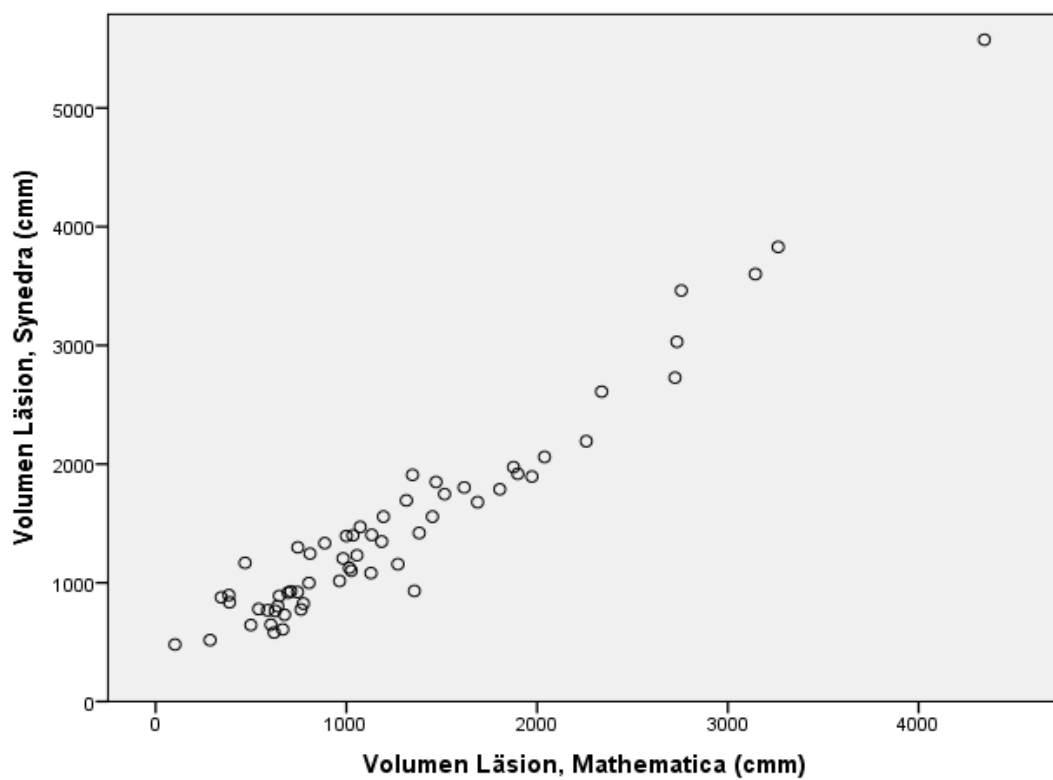


Abb. A 42: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der T_2^* -Sequenz

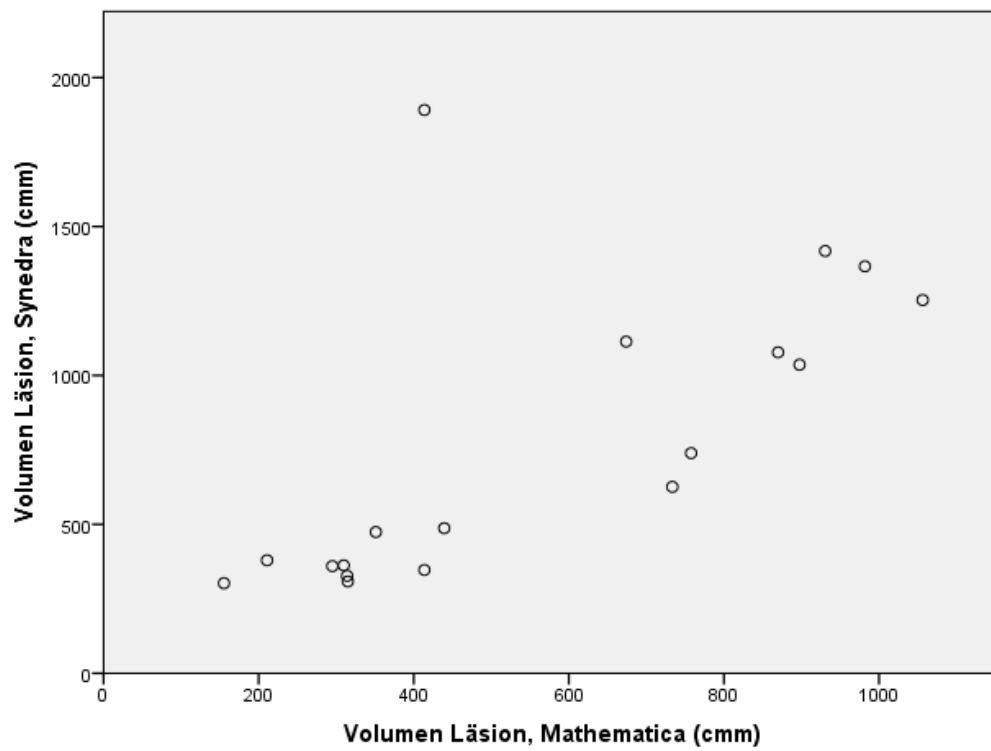


Abb. A 43: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der STIR-Sequenz

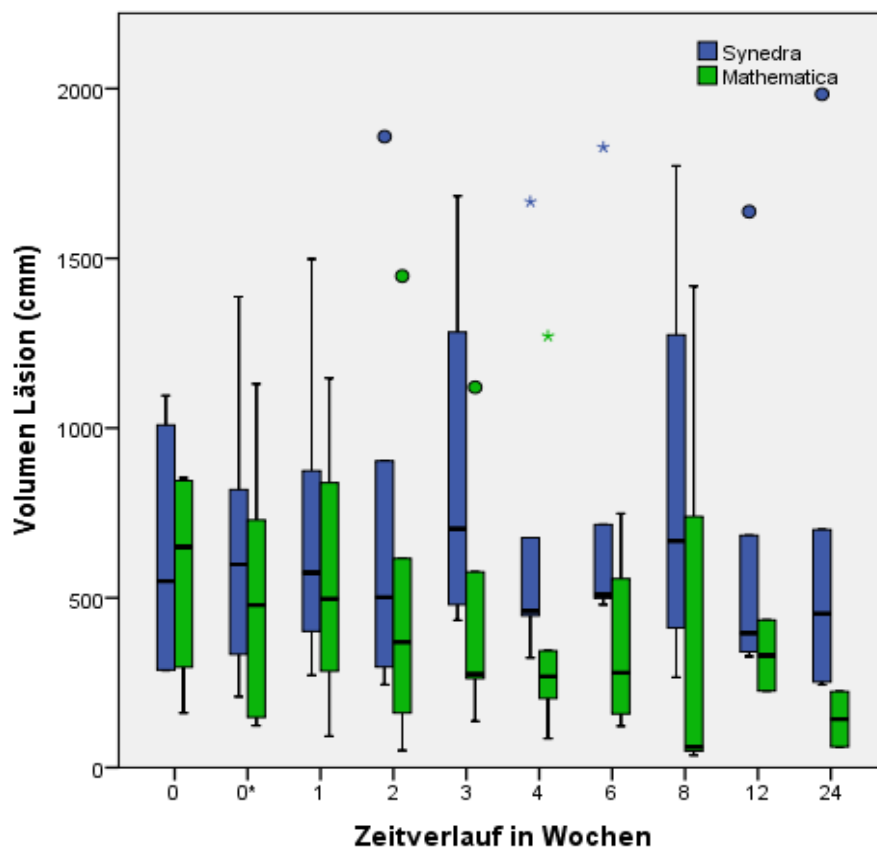


Abb. A 44: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_2 -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 41$, 0* = nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte

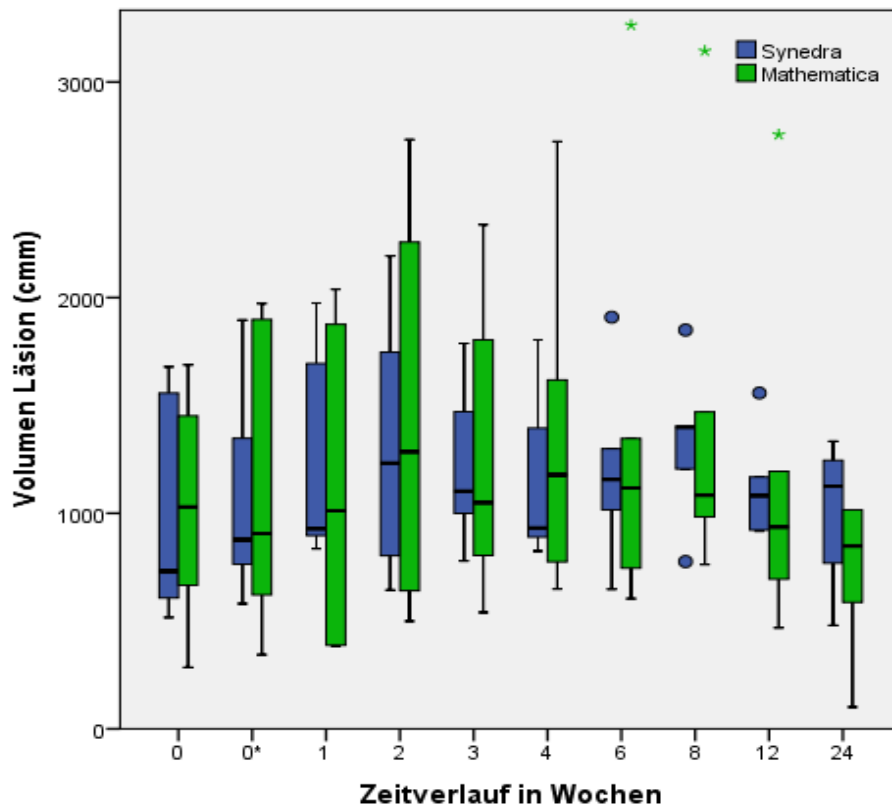


Abb. A 45: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der T_2^* -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 60$, 0* = nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte

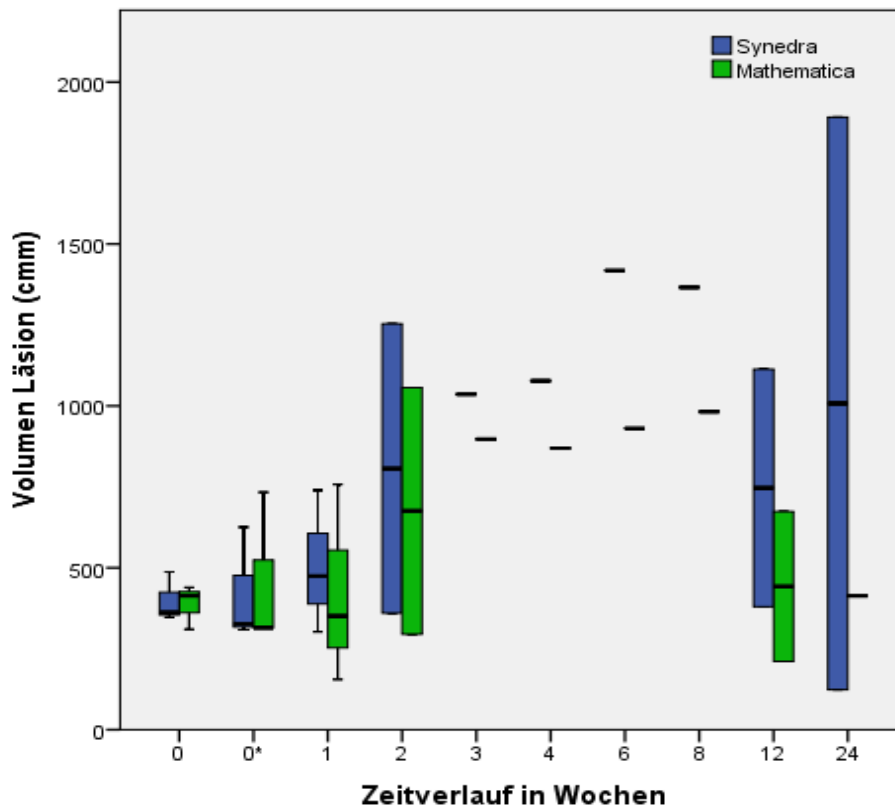


Abb. A 46: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der STIR-Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, $n = 18$, 0* = nach Serumapplikation

9.1.7 Ergänzende Daten Kapitel 4.6

Zeitpunkt	SI Läsion
1	9,73
2	13,87
3	11,53
4	11,85
5	10,53
6	9,51
7	6,44
8	8,4
9	6,59
10	5,42

Tab. A 1: SI-Mittelwerte der Läsion Proband 6 (Synedra-Messung, STIR-Sequenz)

Zeitpunkt	MW-CSA (STIR)	MW-CSA (T_1)
1	11,84	19,57
2	14,6	23,12
3	18,4	25,63
4	29,27	37,01
5	24,63	31,44
6	26,11	36,24
7	34,67	44,31
8	33,54	42,19
9	25,21	43,39
10	44,14	61,19

Tab. A 2: MW-CSA der Läsion Proband 6 (Synedra-Messung, STIR- und T_1 -Sequenz)

Zeitpunkt	Läsionsvolumen [mm³]
1	487,13
2	625,87
3	739,23
4	1253,13
5	1036,13
6	1077,63
7	1417,93
8	1366,03
9	1113,59
10	1891,21

Tab. A 3: Läsionsvolumen Proband 6 (Synedra-Messung, STIR-Sequenz)

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Einteilung der Gliedmaße des Pferdes in Zonen für die Untersuchung mittels Ultraschall nach Abb. 16-15 in RANTANEN et al. (2011)	15
Abb. 2: Darstellung MRT-Aufnahme im Synedra-Programm (weiß umrandet: außen OBS, innen gesamte Läsion; blau umrandet: 1 mm ² ROI).....	30
Abb. 3: Darstellung MRT-Aufnahme im Synedra-Programm (weiß umrandet: außen OBS, innen größtmögliche Kreis-ROI; blau umrandet: gesamte Läsion).....	30
Abb. 4: Darstellung MRT-Aufnahme im Synedra-Programm, Zahlenwerte zu jeder Kreis-ROI: Umfang, Fläche, AVG-SI, SD-SI, Minimale SI, Maximale SI (weiß: drei 50 mm ² ROI zur Bestimmung der SI des Hintergrundes; blau: ROI innerhalb der Kortikalis des Röhrenknochens	30
Abb. 5: Ausgabeformate der Daten im Mathematica-Programm [oben: tabellarische Darstellung; unten links: Säulendiagramm (Ordinate: Anzahl der Bildpunkte; Abszisse: Signalintensität); unten rechts: Boxplot (Ordinate: Signalintensität)] (ROI= gesamte Sehne, Läsion= Sehnenläsion, Hintergrund= gesamte Sehne abzüglich Läsionsbereich, Fläche= CSA, Mittelwert= AVG-SI, SD= Signaldifferenz, Median= Medianwert SI, IQR= Interquartilsabstand, $_{/Q75/Q25}$ = 75% bzw. 25% Quantil, $_{/Q90/Q10}$ = 90% bzw. 10% Quantil, Min= Minimale SI, Max= Maximale SI, Range= SI-Differenz von Min und Max).....	31
Abb. 6: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten AVG-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	35
Abb. 7: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	36
Abb. 8: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der T ₁ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst.....	38
Abb. 9: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1 mm ²) in der T ₁ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	39
Abb. 10: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der T ₁ -Sequenz, 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.	40
Abb. 11: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der T ₁ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	41
Abb. 12: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der T ₁ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	41
Abb. 13: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der T ₁ -Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, 0*= nach Serumapplikation	42
Abb. 14: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der T ₁ -Sequenz....	43

Abb. 15: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₁ -Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten; 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	44
Abb. 16: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der T ₁ -Sequenz	45
Abb. 17: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₁ -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten; 0*= nach Serumapplikation, Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	46
Abb. 18: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der T ₁ -Sequenz	47
Abb. 19: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₁ -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten; 0*= nach Serumapplikation.....	48
Abb. 20: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und T ₁ -Sequenz.....	49
Abb. 21: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und T ₂ -Sequenz.....	50
Abb. 22: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und T ₂ *-Sequenz	51
Abb. 23: Gegenüberstellung MAX-CSA der Läsion von Ultraschall und STIR-Sequenz	52
Abb. 24: MAX-CSA der Läsion in MRT- und Ultraschall-Messung zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten; 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	53
Abb. 25: SI der Läsion standardisiert nach Formel 4 in der Synedra-Messung zu allen zehn Messzeitpunkten; 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	54
Abb. 26: MW-CSA der Läsion in der Synedra-Messung zu allen zehn Messzeitpunkten; 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	55
Abb. 27: Volumen der Läsion in der Synedra-Messung zu allen zehn Messzeitpunkten; 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	56
Abb. 28: MRT-Aufnahme T ₁ -Sequenz; Links: Sehnenläsion in OBS als heller Bereich zu erkennen; Rechts: in rot der von Mathematica definierte Läsionsbereich	62
Abb. 29: MRT-Aufnahme STIR-Sequenz; Links: Sehnenläsion in OBS als heller Bereich zu erkennen; Rechts: in rot der von Mathematica definierte Läsionsbereich (großes Areal entspricht Läsion, die beiden kleineren Areale sind artefaktbedingt).....	63
Abb. A 1: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 1 standardisierten AVG-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	80
Abb. A 2: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 2 standardisierten AVG-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	81
Abb. A 3: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten AVG-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	81
Abb. A 4: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten MAX-Signalintensität zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz	82

Abb. A 5: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 1 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	82
Abb. A 6: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 2 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	83
Abb. A 7: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	83
Abb. A 8: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	84
Abb. A 9: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 3 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	84
Abb. A 10: Gegenüberstellung der HE-Färbung und der nach Formel 4 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	85
Abb. A 11: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der T ₂ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst.....	86
Abb. A 12: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der T ₂ *-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst.....	86
Abb. A 13: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (größtmöglicher Kreis) in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst.....	87
Abb. A 14: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1mm ² Kreis-ROI) in der T ₂ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	87
Abb. A 15: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1mm ² Kreis-ROI) in der T ₂ *-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst.....	88
Abb. A 16: Gegenüberstellung der SI basierend auf der ROI (gesamte Läsion) und der ROI (1mm ² Kreis-ROI) in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst.....	89
Abb. A 17: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der T ₂ -Sequenz, 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.	89
Abb. A 18: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der T ₂ *-Sequenz, 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.	90
Abb. A 19: SI der Läsion auf Grundlage unterschiedlich großer ROI zu allen Messzeitpunkten in der STIR-Sequenz, 0*= nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte.	90
Abb. A 20: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der T ₂ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	91

Abb. A 21: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der T ₂ *-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	91
Abb. A 22: Gegenüberstellung MW-CSA und MAX-CSA der Läsion in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	92
Abb. A 23: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der T ₂ -Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	92
Abb. A 24: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der T ₂ *-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	93
Abb. A 25: Gegenüberstellung MW-CSA und angepasste CSA der Läsion in der STIR-Sequenz, alle Untersuchungszeitpunkte zusammengefasst	93
Abb. A 26: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der T ₂ -Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, 0* = nach Serumapplikation	94
Abb. A 27: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der T ₂ *-Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, 0* = nach Serumapplikation	94
Abb. A 28: Gegenüberstellung MAX-CSA, MW-CSA und angepassten CSA der Läsion in der STIR-Sequenz zu allen Untersuchungszeitpunkten, 0* = nach Serumapplikation	95
Abb. A 29: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der T ₂ -Sequenz	96
Abb. A 30: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der T ₂ *-Sequenz	96
Abb. A 31: Gegenüberstellung SI-Messung im Synedra und Mathematica in der STIR-Sequenz	97
Abb. A 32: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₂ -Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	97
Abb. A 33: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₂ *-Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	98
Abb. A 34: SI der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der STIR-Sequenz zu allen zehn Untersuchungszeitpunkten, 0* = nach Serumapplikation, Sterne und Kreise repräsentieren Ausreißerwerte	98
Abb. A 35: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der T ₂ -Sequenz	99
Abb. A 36: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der T ₂ *-Sequenz	99
Abb. A 37: Gegenüberstellung CSA-Messung im Synedra und Mathematica in der STIR-Sequenz	100
Abb. A 38: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₂ -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, 0* = nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte	100

Abb. A 39: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₂ *-Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, 0*= nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte	101
Abb. A 40: MW-CSA der Läsion in Synedra- und Mathematica-Messung in der STIR-Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, 0*= nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte	101
Abb. A 41: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der T ₂ -Sequenz.....	102
Abb. A 42: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der T ₂ *-Sequenz.....	102
Abb. A 43: Gegenüberstellung Läsionsvolumen im Synedra und Mathematica in der STIR-Sequenz.....	103
Abb. A 44: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₂ -Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, 0*= nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte	103
Abb. A 45: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der T ₂ *-Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, 0*= nach Serumapplikation, Kreise und Sterne repräsentieren Ausreißerwerte	104
Abb. A 46: Läsionsvolumen in Synedra- und Mathematica-Messung in der STIR-Sequenz zu allen zehn Messzeitpunkten, 0*= nach Serumapplikation.....	104

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Untersuchungszeitpunkte der MRT	23
Tab. 2: Technische Parameter der MRT-Sequenzen	24
Tab. 3: Bildebenenbereiche pro Proband und MRT-Sequenz.....	27
Tab. 4: Parameter, die in MRT- beziehungsweise Ultraschall-Bildern bestimmt wurden	27
Tab. 5: Beispiel Proband 1, MRT T ₂ *-Sequenz, ermittelte CSA-Werte	29
Tab. 6: Anzahl der Bildpaare, die pro Sequenz für die statistische Auswertung der unterschiedlichen CSA-Bestimmungen zur Verfügung standen.....	33
Tab. 7: Anzahl der Bildpaare, die pro Sequenz für die statistische Auswertung der Korrelation von Synedra und Mathematica zur Verfügung standen.....	34
Tab. 8: Anzahl der Werte, die für die Verlaufsbeurteilung der MRT-Sequenzen untereinander zur Verfügung standen.....	34
Tab. 9: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 1 bis 4 standardisierten AVG-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	36
Tab. 10: Gegenüberstellung der Masson-Trichrom-Färbung und der nach Formel 1 bis 4 standardisierten MAX-SI zum Zeitpunkt 10 in der T ₁ -Sequenz.....	37
Tab. A 1: SI-Mittelwerte der Läsion Proband 6 (Synedra-Messung, STIR-Sequenz).....	105
Tab. A 2: MW-CSA der Läsion Proband 6 (Synedra-Messung, STIR- und T ₁ -Sequenz)	105
Tab. A 3: Läsionsvolumen Proband 6 (Synedra-Messung, STIR-Sequenz)	106

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich sehr herzlich bei all denen bedanken, die mich bei meiner Dissertation so großartig unterstützt haben:

- bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Walter Brehm, der mir die Durchführung dieser spannenden Arbeit ermöglicht hat.
- bei meiner Betreuerin Dr. Janina Burk, die es mir ermöglicht hat neben meiner Arbeit als praktische Tierärztin diese Dissertation durchzuführen, für ihr entgegengebrachtes Vertrauen und dass sie mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand.
- bei Dr. Dagmar Berner für die Unterstützung bei der Bildauswertung mittels des Synedra-Programms und ihre fachlichen Ratschläge zur Durchführung.
- bei Carolin Horstmeier, die durch ihren großartigen Einsatz innerhalb des zugrundeliegenden Tierversuches den Grundstock für diese Arbeit bildete und mir bei Fragen immer zur Seite stand.
- bei Aline Hillmann, die gemeinsam mit Carolin Horstmeier die Durchführung des Tierversuches betreute und für das Wohlergehen der Tiere sorgte.
- bei Karsten Winter, der das Mathematica beherrschte und auch bei sonstigen technischen Problemen zur Stelle war.
- bei dem gesamten Team der AG Burk des TRM. Mit diesem Team macht auch das Arbeiten bis tief in die Nacht Freude.
- bei meinen Eltern, die mich im Studium und auch während der Doktorandenzeit immer unterstützt haben.
- bei meiner Chefin Dr. Carina Schirm, die mir durch flexible Dienstplanregelungen genug Zeit für die Dissertation einräumte.
- bei Ulrich Schirm, der mir bei der Formatierung mit Rat und Tat zur Seite stand.